Diss.
D. 7.

Zeitschrift für Zellforschung 65, 481—513 (1965)

Aus dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie des 1. Zoologischen Instituts Göttingen

MEIOTISCHE PROPHASE UND SPERMATIDENREIFUNG BEI *GRYLLUS DOMESTICUS* MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER CHROMOSOMENSTRUKTUR

Von

KI SSU SCHIN*

Mit 18 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. August 1964)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Einleitung

Die Struktur des Inhaltes reifender Spermatidenkerne ist uneinheitlich. Von regellos aufgewundenen 200 AE starken, überaus dichten Fäden, deren Aggregationen im elektronenmikroskopischen Dünnschnittbild einer Ansammlung von Grana ähneln (BURGOS und FAWCETT 1955, 1956; FAWCETT 1958), von einander parallelen, in späten Entwicklungsabschnitten miteinander verklebenden Fäden (YASUZUMI 1956, YASUZUMI und TANAKA 1958, RIS 1958) oder Lamellen (GRASSÉ et al. 1956, REBHUN 1957, GALL und BJÖRK 1958) bis zu im Querschnitt honigwabenartig angeordneten Röhrchen (YASUZUMI und ISHIDA 1957) findet man eine Reihe von sehr verschiedenartigen Chromatinanordnungen.

Nach polarisationsmikroskopischen Untersuchungen (SCHMIDT 1928, PATTRI 1932, CASPERSSON 1939) verläuft die große Achse der Indexellipse häufig quer zur Längsachse des Spermiums. Da DNS negativ doppelbrechend im Bezug auf die Längsachse des Moleküls ist (vergl. CASPERSSON 1939), dürften in solchen Fällen die DNS-Moleküle der Längsachse des Spermiums parallel geordnet sein. In anderen Fällen ist der Spermienkern vollständig isotrop (PATTRI 1932).

Die Individualität von Chromosomen bleibt nicht nur über die Interphase (BOVERI 1887), sondern sogar über viele Organismengenerationen hinweg weitgehend erhalten (HARTMANN 1953, Lit. STURTEVANT und BEADLE 1939). Man muß deshalb annehmen, daß die DNS-haltigen Elemente des parallelfädigen oder des lamellären oder des zu regellosen Strängen aufgewundenen Spermatidenchromatins so miteinander verknüpft sind, wie es ihrer Anordnung in den mitotischen und meiotischen Chromosomen entspricht.

Die autoradiographischen Befunde TAYLOR's (1957, 1963) schließen nahezu aus, daß somatische, der Mitose fähige Chromosomen polytän sind. Viel wahrscheinlicher ist, daß eine einzige DNS-Polynukleotidkette nach WATSON und CRICK (1953) die genetische Information eines Chromosoms trägt. Dieser Strang dürfte allerdings durch Bindeglieder noch unbekannter Zusammensetzung in zahlreiche Abschnitte unterteilt sein.

---

* Der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen als Dissertation vorgelegt.

Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und die Göttinger Akademie der Wissenschaften.

Herrn Privatdozent Dr. Fr. W. SCHLOTE danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für fördernde Diskussionen.

Auch die Struktur bivalenter Chromosomen der meiotischen Prophase läßt sich am besten unter der Annahme verstehen, daß Chromosomenabschnitte, welche sich paaren, mit anderen abwechseln, welche sich nicht zur Paarung aneinanderlegen (Moses 1956, 1958, Ris 1956, Callan 1961). Die nicht gepaarten Abschnitte der DNS-Kette können offenbar je nachdem zu Chromomeren kondensiert oder zu Schleifen aufgelockert sein. Die Paarung dagegen scheint sich an kurzen, wohl ebenfalls DNS-haltigen Zwischengliedern zu vollziehen.

Man ist versucht, die aus dem meiotischen Verhalten der Chromosomen erschlossenen für die Paarung wesentlichen Abschnitte mit jenen Bindegliedern unbekannter Zusammensetzung zu vergleichen, die Freese (1958) und Taylor (1963) für ihr mitotisches Chromosomenmodell benötigten, um alle beobachteten Erscheinungen zu erklären.

Hier wie dort besitzt das Chromosom anscheinend Abschnitte, die im mechanischen Ablauf seiner Cyclen eine wesentliche Rolle spielen. Sie müssen unterschieden werden von anderen Abschnitten, die, folgt man Callan, für die Informationsabgabe an das Cytoplasma verantwortlich sind.

Wenn das zutrifft, müßte man diese beiden Strukturelemente eines Chromosoms auch im Spermienkopf wiederfinden können, gibt es doch wohl kein Objekt, bei dem so hohe Anforderungen an eine geordnete reversible Kondensation gestellt werden. Es schien daher lohnend, das Problem der Spermatidenreifung trotz zahlreicher zum Teil vortrefflicher Arbeiten anderer Autoren unter diesem Gesichtspunkt erneut aufzugreifen und die dort gefundenen Strukturen mit den für die Chromosomenpaarung verantwortlichen Elementen zu vergleichen.

Material und Methoden

Aus vier Wochen alten Grillenmännchen (*Gryllus domesticus*) eigener Züchtung (T = + 30 Grad) wurden bei +4°C die Hoden herauspräpariert und sogleich in 1%iger gepufferter OsO_4-Lösung von +4°C in Stücke von 0,5—1 mm Dicke zerlegt.

Pufferlösungen:

1. 5 ccm Stammlösung A (9,714 gr Na-Acetat; 14,714 gr Na-Veronal in 500 ccm Wasser), dazu 2 ccm Stammlösung B 1 (10,3 gr NaCl in 100 ccm Wasser), dazu 5,5 ccm n/10 HCl, dazu 12,5 ccm dest. Wasser. pH 7,2.

2. 5 ccm Stammlösung A wie oben, dazu 2 ccm Stammlösung B 3 (6,55 gr $CaCl_2$, tr. in 100 ccm Wasser), dazu 5,5 ccm n/10 HCl, dazu 12,5 ccm dest. Wasser. pH 7,2.

3. Ringerlösung nach Carlson (1945): 6,8 gr. NaCl; 0,2 gr KCl; 0,2 gr NaH_2PO_4, tr.; 0,125 gr $NaHCO_3$, tr.; 0,2 gr $CaCl_2$, tr.; 0,1 gr $MgCl_2$, tr.; 7,7 gr Glukose; 1000 ccm dest. Wasser. pH 5,0.

Nach 1—2 Std. Fixierung in gepufferter OsO_4-Lösung wurden die Objekte mit dem entsprechenden Puffergemisch mehrfach ausgewaschen und sodann 90 min bei +4°C mit einer der folgenden Lösungen nachbehandelt:

a) 1% Phosphorwolframsäure in 70% Alkohol, pH 3,0.
b) 1% Phosphorwolframsäure in 30% Alkohol, pH 2,2.
c) 1% Uranylacetat in dest. Wasser.

Dehydratation über Äthylalkohol. Einbettung in Methacrylat (B:M wie 3:1). Polymerisation bei +80°C für 8 Std. Andere Objekte wurden nach 1c behandelt und über Aceton in Vestopal[1] oder Durcupan ACM (Araldit, Fluka[2]) gebracht. Von den mit Methacrylat eingebetteten Objekten wurden gezielte Dünnschnitte durch Zellen bekannter Phase angefertigt (Schlote u. Föge 1958, Schlote 1959). Ultramikrotom Sjöstrand 1955. Elektronenmikro-

[1] Martin Jaeger, Vesenaz/Genf, Schweiz.
[2] Buchs SG., Schweiz.

skop Siemens Elmiskol 1. Fotomaterial Kranz Ortho-Kontrast-Platten und Agfa Agepe-Planfilm. Entwickler Kodak DK 60a bzw. Agfa Varitol hart.

Zur Präparation für lichtmikroskopische Untersuchungen wurden die Hoden für 1 Stunde nach Bouin-Allen fixiert, über Alkohol und Methylbenzoat in Paraffin gebracht und die Schnitte nach Feulgen gefärbt.

Lebenduntersuchungen wurden in Carlson-Ringer unter dem Leitz-Ortholux-Polarisationsmikroskop, Obj. 22/0.50, Wasser und 100/1.30 Oel durchgeführt. Elektronenblitz bei Verwendung von Obj. 22/0.50. Film Adox KB 17. Entwickler Rodinal 1:75.

Befunde

A. Formwechsel der feulgenpositiven Substanz in reifenden Spermatiden

Im Anschluß an die Telophase 2 lockern sich die Spermatidenkerne auf (Abb. 1a). An ihrem Innenrand erscheinen 10 bzw. 11 feulgenpositive Kondensate *(Chro, $Chro_x$)*, die Chromatiden des haploiden Satzes. Sie entspiralisieren sich nach einer Zeit und es entstehen sehr dünne feulgenpositive Girlanden, die bogenförmig das Kernlumen durchziehen (Abb. 1b, 2a: *Chro*). Bald geben sie das Zentrum des Kernes frei. Kurze Zeit später legen sie sich der inneren Kernmembran an und lassen das Kerninnere, soweit man sehen kann, feulgennegativ zurück (Abb. 2b).

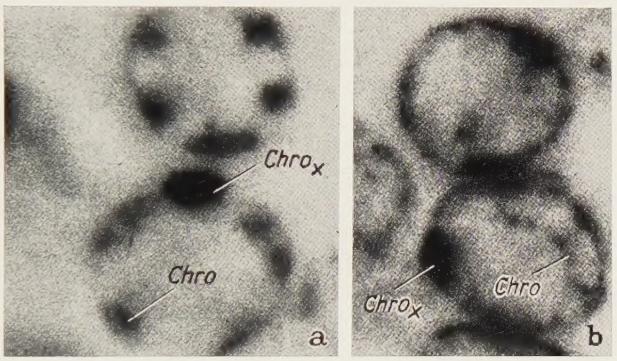

Abb. 1a. Spermatidenkern. Kondensation der Chromosomen an der Kernmembran einige Zeit nach Telophase 2. a u. b Feulgen. b Wiederauflockern der kondensierten Chromosomen. Die Kernmembran beginnt, sich mit Chromatin zu bedecken. *Chro.* Chromosom; *$Chro_x$* X-Chromosom

Von nun an bleiben die Chromatinstränge unsichtbar. Statt dessen erscheint eine lichtmikroskopisch homogene, feulgenpositive Rinde am Innenrand des Kernes (Abb. 2b—k). Lediglich nahe dem Centriol bleibt eine Kappenzone ausgespart. Sie vergrößert sich, flacht sich ab (Abb. 2b, Pfeile) und es entsteht ein nußschalenartiges Gebilde, das sich in Richtung des auswachsenden Centriols streckt (Abb. 2c) und über Schiffchenform (Abb. 2d, e) und Kanoeform (Abb. 2f) zum reifen Spermienkern umwandelt (Abb. 2g). Stets bleibt, wie Querschnitte zeigen (Abb. 2h—k), die feulgenpositive Zone an der Kernperipherie etwa gleichbreit. Ihre Dichte nimmt dagegen zu: Junge Spermatiden mit kugelförmigem Kern haben eine DNS-tragende Oberfläche von 20—25 μ^2 (Abb. 2b), fast reife Spermien (Abb. 2f, i) eine solche von etwa 16 μ^2. Bei reifen Spermien dürfte dieser Wert etwa 12 μ^2 betragen (Abb. 2g, k).

Rechnung: Kerndurchmesser in Abb. 2b: 2,8 μ. Kugeloberfläche mithin 24,5 μ^2. Davon ab die DNS-freie Fläche mit ca. 1,5 μ Durchmesser, kreisförmig, also 1,75 μ^2, gibt 22,75 μ^2.

Kerndurchmesser in Abb. 2f bzw. i: etwa 1 μ. Länge des Schiffchens ca. 7,5 μ. Ergibt eine Oberfläche von $2\,\pi \cdot r \cdot l = 22{,}5\,\mu^2$. Davon ab die DNS-freie Fläche, ca. $^1/_4$ der ganzen Oberfläche oder 5,6 μ^2. Gibt ca. 16 μ^2.

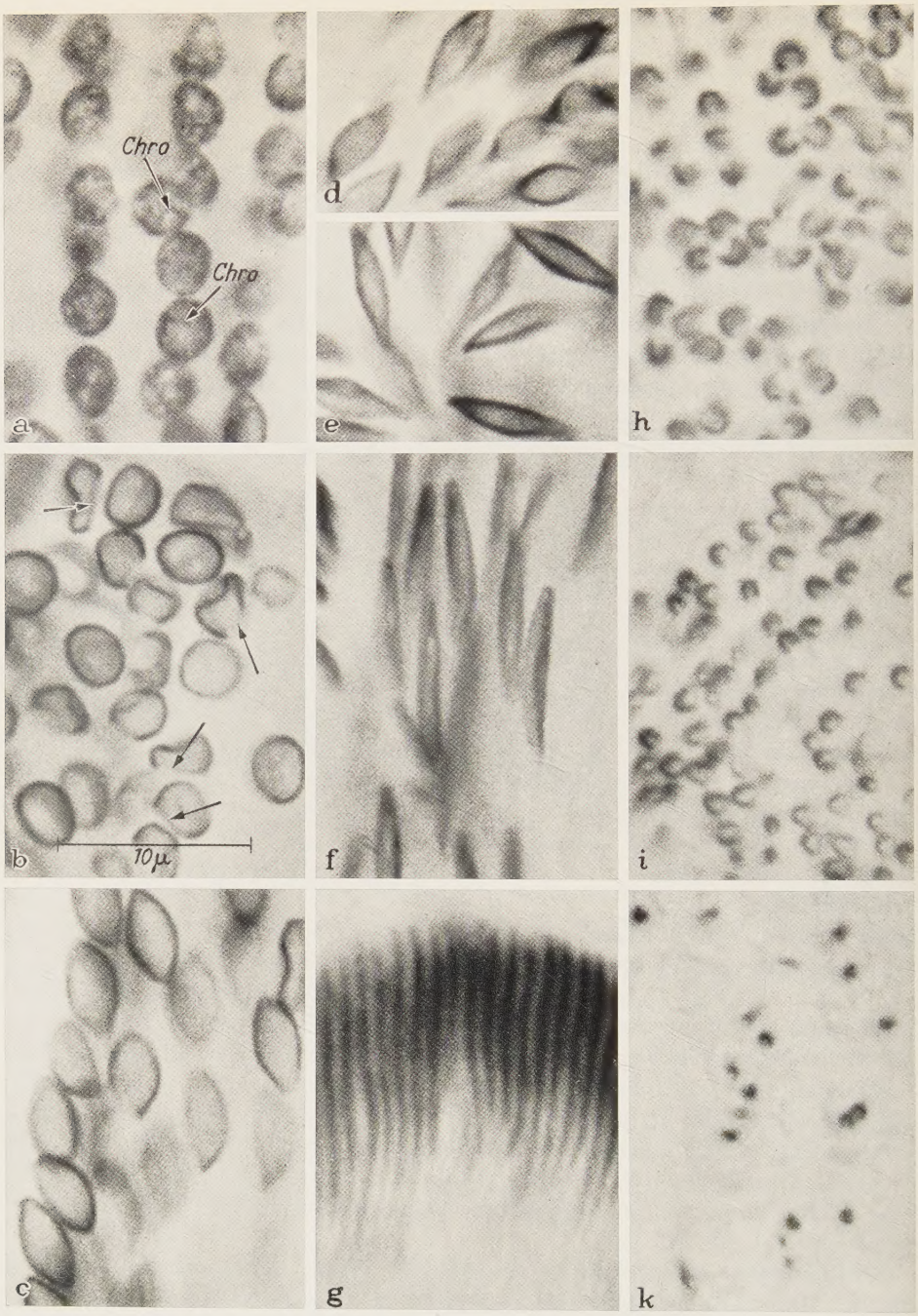

Abb. 2. a Spermatidenkern, Alter wie in Abb. 1 b. a—k Feulgen. b. Das Chromatin hat sich unterhalb der Kerngrenze zu einer etwa 0,3 μ breiten Rinde kondensiert. c—g Der Kern streckt sich und wird zunehmend schmaler. h—k Querschnitte durch Spermatidenkerne verschiedenen Alters. k Reife Spermien. b—k 3200 ×; *Chro*. Chromosom

Kerndurchmesser in Abb. 2g und k (reife Spermien) ca. 0,56 μ. Kernlänge ca. 14 μ. Gesamtoberfläche 25 μ^2. Davon etwa die Hälfte mit DNS besetzt (vgl. auch Abb. 13c). Gibt eine mit DNS-besetzte Fläche von etwa 12 μ^2.

Mithin wird das Chromatin während der Streckung des Spermatidenkernes beträchtlich verschoben und etwa auf die doppelte Dichte kondensiert.

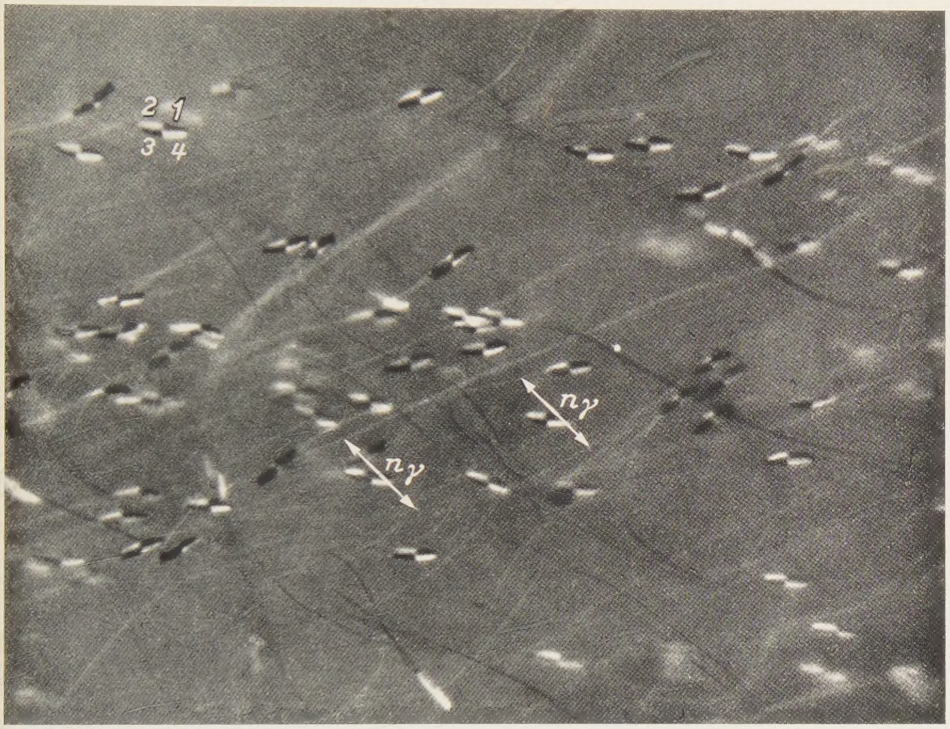

Abb. 3. Lebende Spermatidenzellen im polarisierten Licht. Obj. 22/0,50 Wasser, Elektronenblitz. NW-SO-Richtung kompensiert. *1—4:* Steht die Symmetrieebene des Spermiums auf der Bildebene senkrecht, so werden 4 Quadranten sichtbar (vgl. Abb. 4). n_γ: große Achse der Indexellipse in Quadrant 1

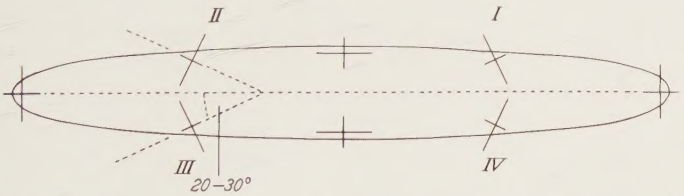

Abb. 4. Orientierung der Indexellipse in den 4 Quadranten mittelalter Spermatidenkerne

Reifende Spermatidenkerne lassen, solange sie rund sind, keine Doppelbrechung erkennen. Erst von dem Augenblick an, wo der nußschalenförmige Zellkern sich zu strecken beginnt, wird ein erster schwacher Gangunterschied sichtbar (Abb. 10a). Deutlicher erscheint er in späteren Entwicklungsabschnitten (Abb. 3, 11). Hier besitzt die periphere Chromatinzone des schiffchenförmigen Zellkernes vier doppelbrechende Quadranten (vgl. Abb. 4). Je zwei einander diagonal gegenüberliegende Sektoren, also z. B. die Sektoren I und III in Abb. 4,

enthalten demnach Mizelle, deren Vorzugsrichtung etwa dieselbe ist. Im Mittelabschnitt des III. Quadranten bildet die kleine Achse der Indexellipse mit der positiven Richtung der Längsachse des Spermiums einen Winkel von 200 bis 210 Grad. Im Mittelabschnitt des I. Quadranten beträgt der Winkel 20—30 Grad. Dort, wo Quadrant I und II bzw. III und IV aneinandergrenzen, verläuft die kleine Achse der Indexellipse in NS-Richtung, am Berührungspunkt von Quadrant II und III bzw. IV und I in OW-Richtung. In jungen Spermatidenkernen beträgt der oben beschriebene Winkel 210—220 Grad bzw. 30—40 Grad. In reifen Spermien ist er kleiner als 200 bzw. 20 Grad. Mithin sollten die DNS-Mizelle zum überwiegenden Teil auf der Kernmembran senkrecht stehen oder doch einen Winkel von mehr als 45 Grad mit ihr bilden. Da der Winkel, den die kleine Achse der Indexellipse mit der Längsachse des Spermiums eingeht, mit zunehmendem Alter kleiner wird, so haften offenbar die DNS-Mizelle irgendwie an der inneren Kernmembran und werden bei der Streckung des Kernes passiv verschoben.

B. Anordnung des Chromatins im Spermatidenkern. Elektronenmikroskopische Befunde

In der Telophase 2 umgibt sich der haploide Chromosomensatz mit den beiden Kernmembranen. Sodann lockert sich der neue Spermatidenkern auf. In seiner Mitte werden Chromatinstränge sichtbar. Es sind Teile von Chromosomen. Sie berühren an verschiedenen Stellen die innere Kernmembran (Abb. 5, periphere Pfeile, vergl. auch Abb. 1b; 2a: *Chro*). Diese ist auch in den dazwischenliegenden

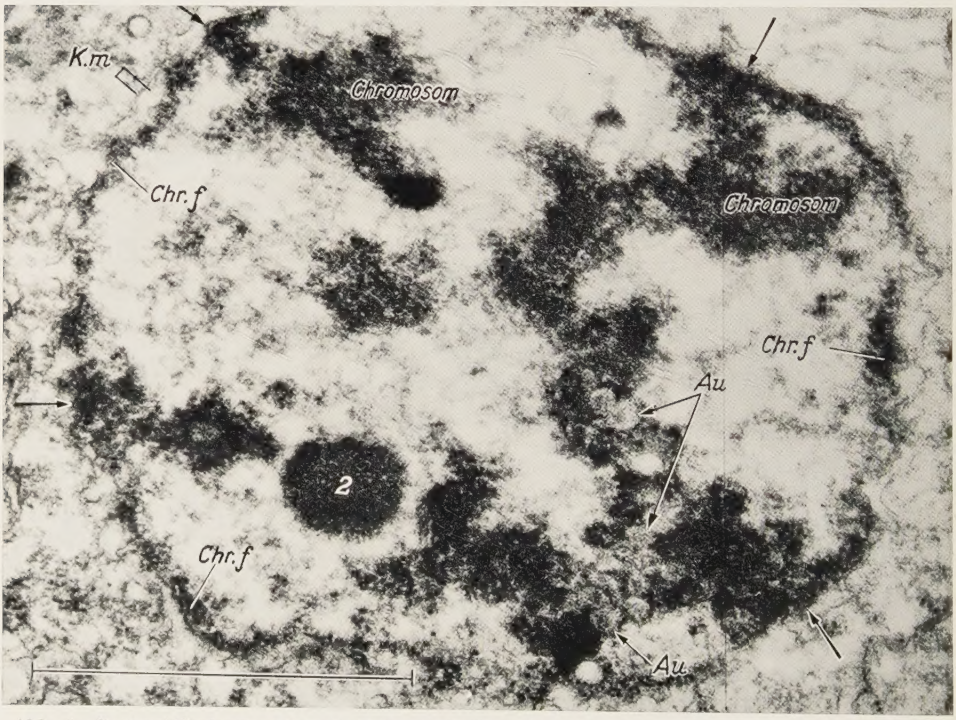

Abb. 5. Spermatidenkern nach dem Wiederauflockern des Chromatins. Alter etwa wie in Abb. 1b. *Chr. f.* Chromatinfilamente. *K.m* Kernmembranen. *Au.* Augenartige Grana. *2* Nukleolus. Pfeile außerhalb des Kernes: Hinweis auf Berührungsstellen zwischen Chromosomen und Kernmembran

Gebieten mit einer schmalen Schicht von dichtem fibrillärem Material bedeckt (Abb. 5: *Chr. f.*; Abb. 1 b). Es läßt sich stark mit Uranylacetat nachkontrastieren. Vermutlich handelt es sich ebenfalls um Chromosomensubstanz.

In die Chromosomen sind augenartige, nicht von einer Membran umschlossene Grana von etwa 1000 AE Durchmesser eingebettet (Pfeile, *Au*). Ihre Peripherie

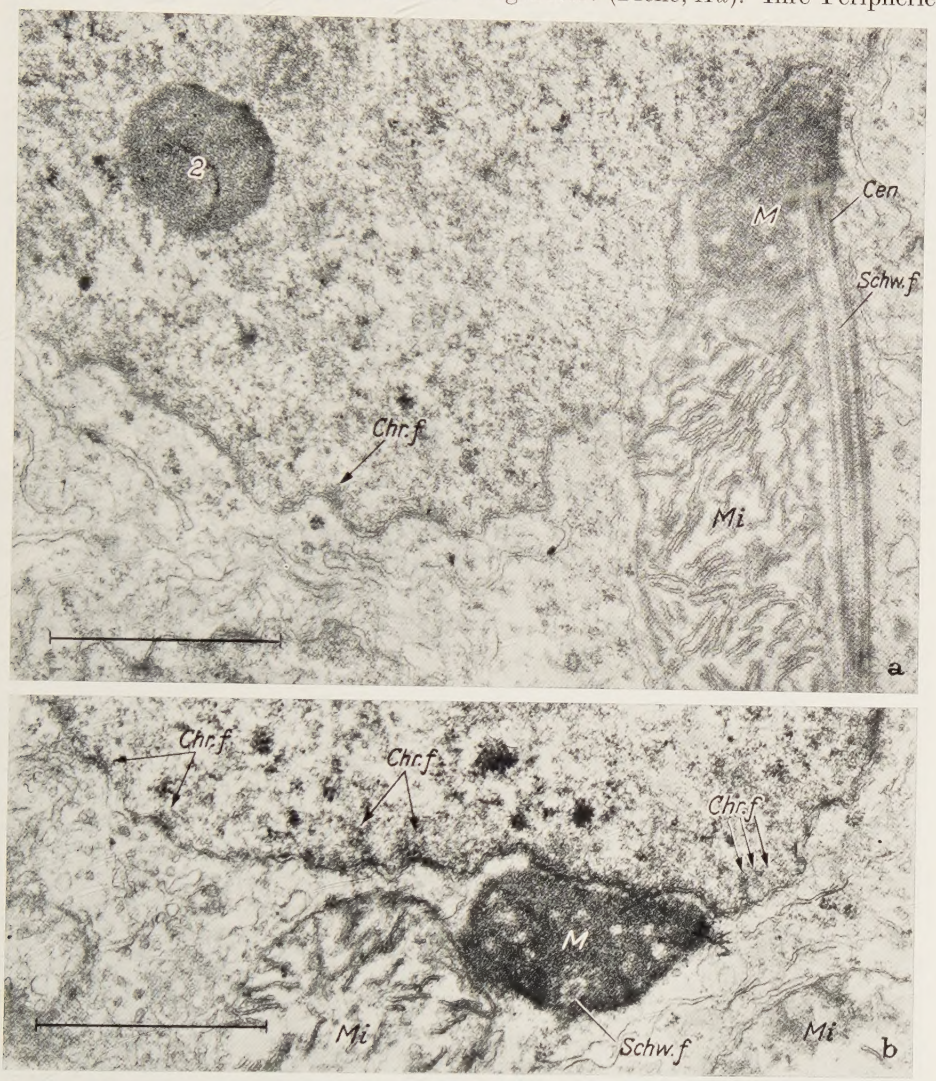

Abb. 6. a Junger runder Spermatidenkern mit typischer Interphasekonfiguration, Längsschnitt. b. Wie a, Querschnitt. *Cen.* Centriol. *Schw. f.* Schwanzfaden. *M* dichte Massen zwischen Centriol und Kernmembran. *Mi* Mitochondrien. *Chr. f.* Chromatinfilamente. *2* Nukleolus

ist heller als ihr Zentrum. Grana vergleichbarer Gestalt wurden bei *Gryllus* auch in den Chromosomen der meiotischen Metaphase gefunden.

Das nächste Stadium (Abb. 6) unterscheidet sich von dem der Abb. 5 durch einen größeren Zellkern und durch die stärkere Auflockerung, die das Chromatin erfahren hat. Auch jetzt sind einzelne Abschnitte der inneren Kernmembran mit feinfädigem Material (*Chr. f.*) besetzt, nur ist es hier sehr viel lockerer verteilt.

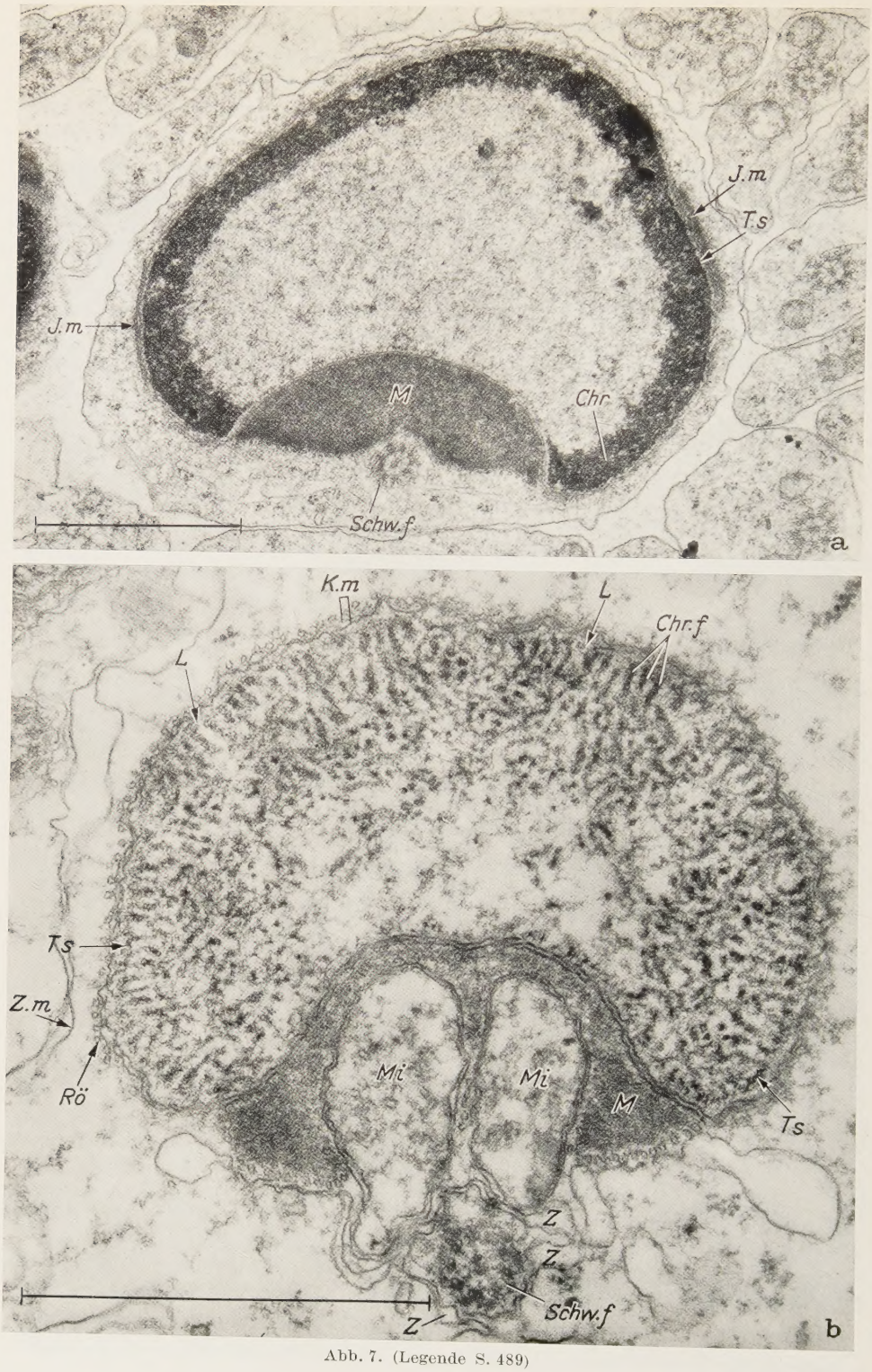

Abb. 7. (Legende S. 489)

Nun wächst der Schwanzfaden (*Schw. f.*) aus. Er entspringt dem Centriol (Abb. 6a: *Cen*), welches in einer Vertiefung der Kernoberfläche sitzt (KAYE 1962), die mit einer amorphen dunklen Masse (*M*) gefüllt ist. Er wächst tangential zur Kernoberfläche weiter und nimmt dabei das Chondriom (*Mi*), das sich zuvor in einen Nebenkern verdichtet hatte, mit. Auch der Zellkern wird sich bald in gleicher Richtung, also im Bild nach unten, verlängern, schmaler werden und dann die zwei Mitochondrienschläuche (*Mi*) zum Teil umfassen.

Von nun an beginnen jene Umlagerungen, die schließlich zur Verpackung des Chromatins in den engen Raum des reifen Spermienkernes führen. Gleicht das Karyoplasma des letzten Stadiums (Abb. 6) noch dem eines hochgradig stoffwechselaktiven Interphasekernes, so ändert sich jetzt das Bild. Die Chromosomensubstanz, die sich schon bald nach der Telophase 2 der inneren Kernmembran zum Teil angeheftet (Abb. 5, vergl. Abb. 1d), dabei aber aufgelockert

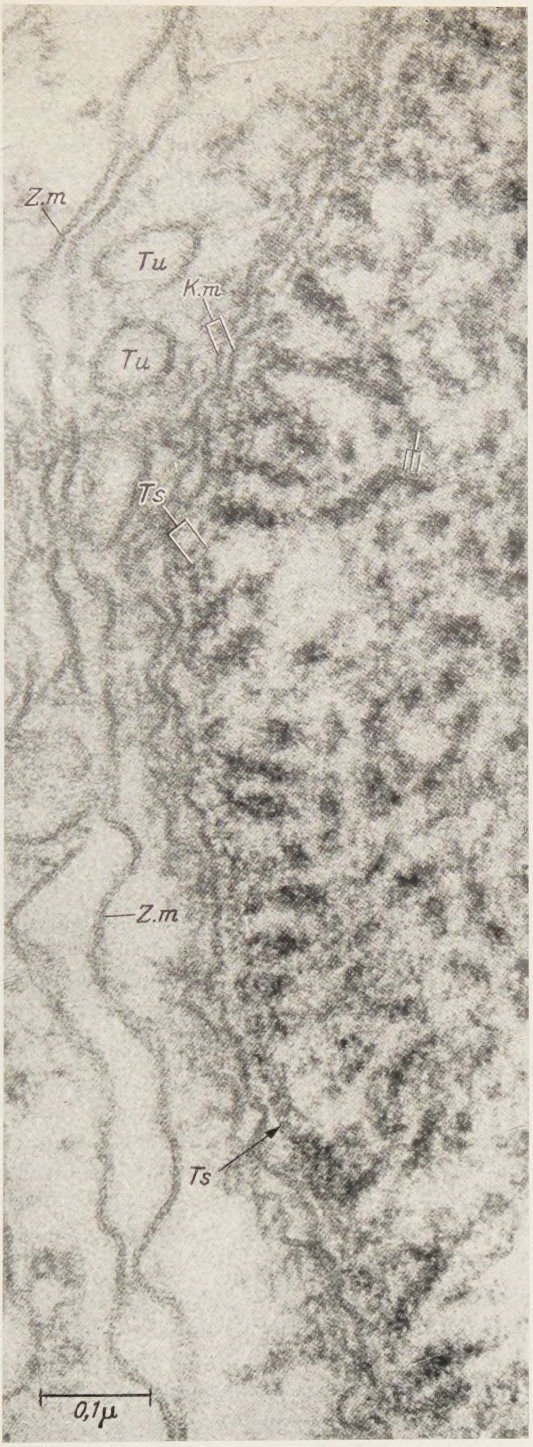

Abb. 8

Abb. 7. a Noch runder Spermatidenkern, bei dem die Kondensation des Chromatins unter der Kernmembran bereits vollzogen ist, Alter wie in Abb. 2b. b. Älterer Spermatidenkern, in dem sich die radialen Chromatinstränge zu strecken beginnen. *Mi.* Mitochondrien. *I. m.* interstitielle „Membran". *K. m.* Kernmembranen. *T. s.* Tangentialschicht. *L.* Unterbrechungsstelle in der Tangentialschicht. *Z. m.* Zellgrenzmembran. *Z. ER* = artige Lakunen um Schwanzfaden *Schw. f.*

Abb. 8. Spermatidenkern, Alter wie in Abb. 7b, stärker vergrößert, um die Struktur der Tangentialschicht zu zeigen. Sehr dünner Schnitt. *K. m.* Kernmembranen. *T. s.* Tangentialschicht. *Z. m.* Zellmembran. *Tu.* Tubuläre Einfaltungen der Zellgrenzmembran

hatte (Abb. 6: *Chr. f.*), sodaß nur einige feinfädige Massen von ihrer Existenz zeugten, zieht sich nun offenbar vollständig zu einer dichten Rinde unter der Kernmembran zusammen (Abb. 7a). Jener Abschnitt der Kernoberfläche dagegen, der von der dunklen, das Centriol einhüllenden Masse berührt wird (Abb. 7a: *M*), bleibt chromatinfrei (vergl. auch Abb. 2b—f, h, i).

Außerhalb der Kernmembran stößt man auf relativ breite dunkle feinfibrilläre Schichten (Abb. 7a: *I.m*). Es sind Ausläufer der interstitiellen „Membran" (Kaye 1962), die zwischen Akrosomgranum und Kernoberfläche ihren Anfang nimmt.

Zunächst liegt das Chromatin scheinbar wirr durcheinander. Mit zunehmender Streckung des Zellkernes beginnt es jedoch, sich zu ordnen und man erkennt bald zahlreiche, etwa 200 AE starke Fäden, die radial in den Kern einstrahlen (Abb. 7b: *Chr. f.*). Diese Fäden haften nicht unmittelbar an der inneren Kernmembran, sondern sie nehmen in einer lockeren Tangentialschicht ihren Anfang (Abb. 7: *Ts*), die etwa 150 AE von der inneren Kernmembran entfernt angeordnet ist. Diese Tangentialschicht stellt keine geschlossene Membran dar. Sie hat überhaupt nichts mit einer Membran gemeinsam. Sie ist außerdem an mehreren Stellen unterbrochen (z. B. in Abb. 7b unter den Pfeilen *L*). Innerhalb der Schnittebene verbindet sie nur kleinere Gruppen von radial verlaufenden Chromatinsträngen miteinander (z. B. in Abb. 7b bei Pfeil *Ts* rechts unten).

Die äußere Oberfläche der Spermatidenkerne dieses Alters ist von einer einschichtigen Lage von 100—150 AE starken Röhrchen bedeckt (Abb. 7b: *Rö*). Sie verlaufen der Längsachse der Zelle parallel und reichen bis weit in den Mittelabschnitt des Spermienschwanzes hinein. In der Längsfurche des Kernes liegen zwei langgestreckte Mitochondrien (*Mi*). Sie sind in eine homogene dunkle Masse eingebettet (*M*), die mit der oben beschriebenen das Centriol einhüllenden Masse identisch sein dürfte. Der Schwanzfaden befindet sich dicht unterhalb der beiden Mitochondrien. Er wird von einer Zisterne (*Z*) umhüllt, die nach beiden Seiten flache Säcke abfaltet. Die Membranen dieser Zisternen sind etwa ebenso stark wie die Kern- und die Mitochondrienmembranen. Sie sind deutlich dünner als die Zellgrenzmembran (Z. *m.* vergl. auch in Abb. 8 *Z. m.* und *K. m.*).

Die Tangentialschicht, an der die Chromatinfäden ansetzen, scheint sich, wie man hin und wieder zu erkennen glaubt, aus zwei einander in etwa 200 AE Abstand parallelen Elementen zusammenzusetzen (Abb. 8, Gabeln *Ts*). In anderen Schnitten (Abb. 9, Harken *Ts*) besitzt sie eine sehr feine Querstreifung, deren Periode etwa 80 AE beträgt. Auch die 200 AE breiten radialen Chromatinstränge sind, wie nur selten zu erkennen ist, mit einer ähnlichen Periode quergestreift. Wahrscheinlich handelt es sich in beiden Fällen um einen oder mehrere dünne Fäden, die zu einer Schraube von 200 AE Außendurchmesser aufgewunden sind. Die Abb. 8 wäre dann von einem sehr dünnen Schnitt gewonnen worden.

Bis zu diesem Stadium war die periphere Chromatinschicht isotrop. Mit zunehmender Verlängerung des Zellkernes beginnt sie, doppelbrechend zu werden (Abb. 10a). Damit geht einher, daß sich die radialen Chromatinfäden strekken und einander parallel anordnen (Abb. 10b). Sie sind nun recht einheitlich etwa 200 AE stark und offenbar innen hohl (Abb. 10d, e: *Q* und Gabeln). Kappenschnitte von solchen Kernen (Abb. 10c—e) lassen etwa 500 Fäden pro μ^2 erkennen. Zu demselben Ergebnis gelangt man auch, wenn man von einem

Querschnitt durch den ganzen Kern ausgeht. Da die Radialfäden (Abb. 7b) in der Schnittebene einen Abstand von etwa 400 AE voneinander halten, so besetzt jeder Faden eine Kernoberfläche von 16×10^4 AE². Das ergibt eine Flächendichte von einigen 600 Fäden pro μ^2 oder bei einer Kernoberfläche von 20 μ^2 etwa 12000 Radialfäden pro Zellkern.

Je älter die Spermatidenzelle wird, umso stärker wird auch die Doppelbrechung. Die Ursache dafür ist anscheinend, daß sich die zunächst 200 AE breiten

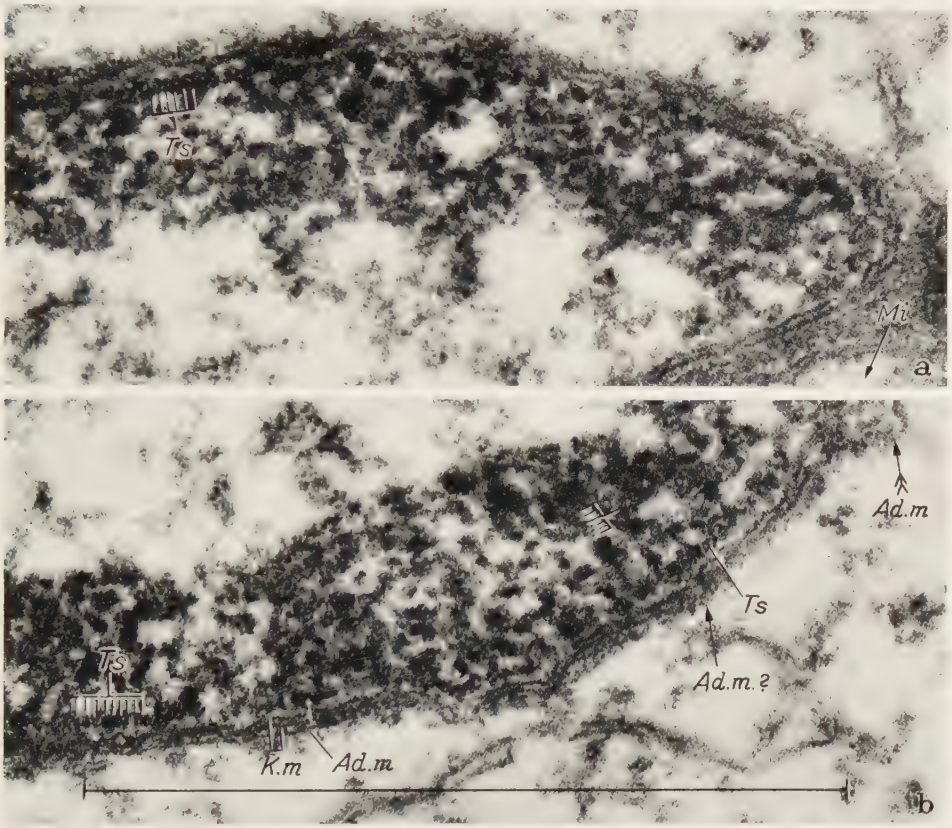

Abb. 9a u. b. Junger Spermatidenkern, bei dem die Radialstränge noch nicht gestreckt sind. Tangentialschicht und Radialstränge besitzen eine feine Querstreifung. *Ad. m.* Additionsmembran. *K. m.* Kernmembranen. *T. s.* Tangentialschicht. *Mi.* Mitochondrium

Chromatinschräubchen stark strecken, dicht aneinanderlegen und zu dicken kompakten Chromatinmizellen verschmelzen (Abb. 11). Es fällt auf, daß die Mizelle außen besonders dick sind und, im Gegensatz zu jüngeren Stadien (Abb. 7—9), zum Zentrum des Kernes hin dünnere Fäden abgeben.

Die der Kernmembran aufliegende Röhrchenschicht ist von einer Membran bedeckt, welche mit einer den Schwanzfaden umhüllenden Membran in kontinuierlicher Verbindung steht (Abb. 11). Diese Membran ist nicht identisch mit der interstitiellen Membran (*Im*) von KAYE. Sie möge Additionsmembran heißen.

Die Additionsmembran und die den Schwanzfaden umhüllenden Membran erscheinen auf diesem Bild einschichtig. Es muß sich dabei jedoch um ein Kunst-

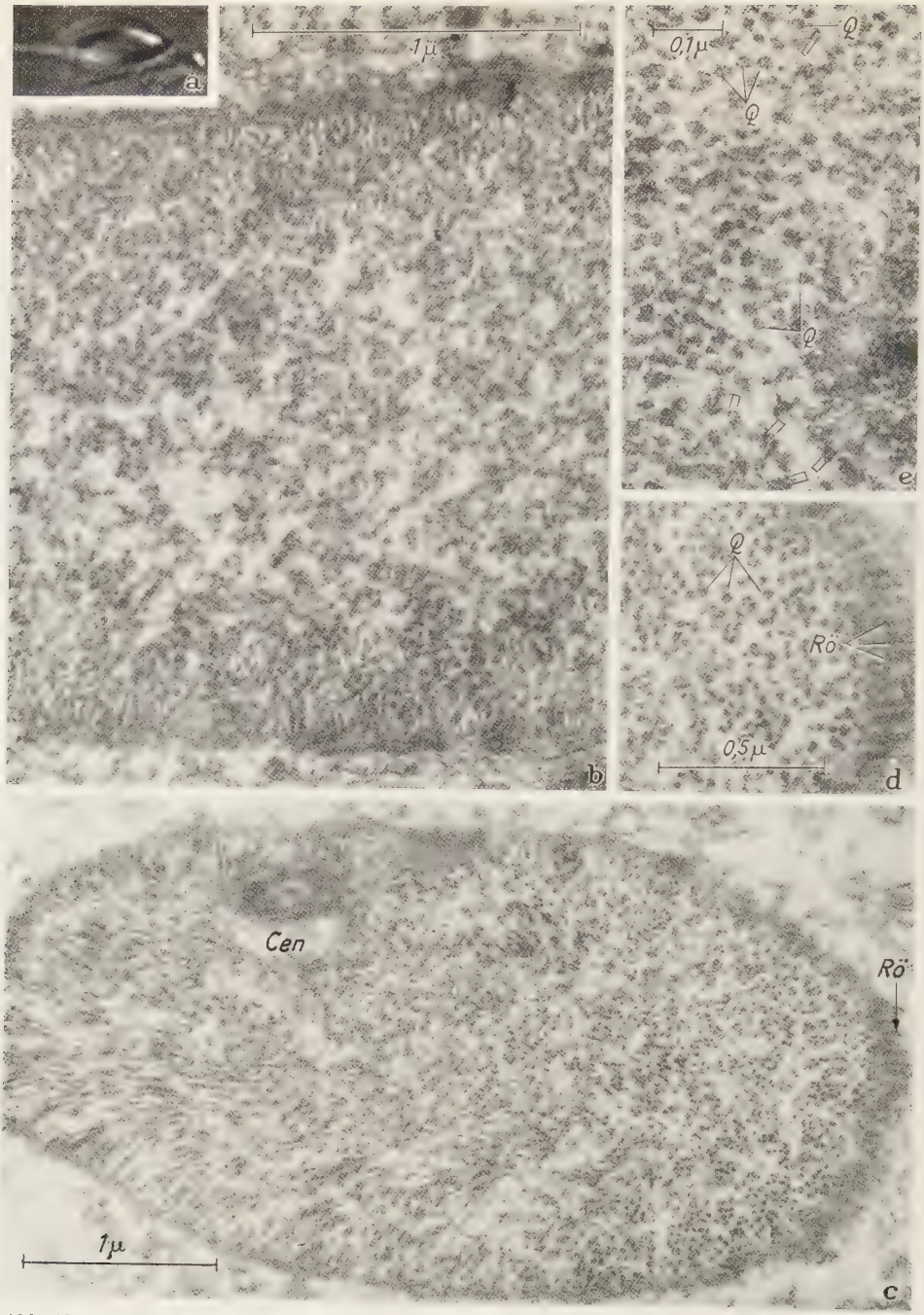

Abb. 10. a Beginnen sich die Radialstränge eines jungen Spermatidenkernes zu strecken, so erscheint in der Kernrinde die erste Eigendoppelbrechung. b Streckung der Radialstränge, Alter wie a. c Kappenschnitt, aus dem die Dichte der Radialstränge pro Kernoberfläche entnommen werden kann. d Wie c, größer. e Wie c, anderer Kern, noch größer. Die Radialstränge sind innen hohl. *Cen.* Centriol. *Rö.* Röhrchenschicht. *Q.* quergeschnittene Chromatinfilamente

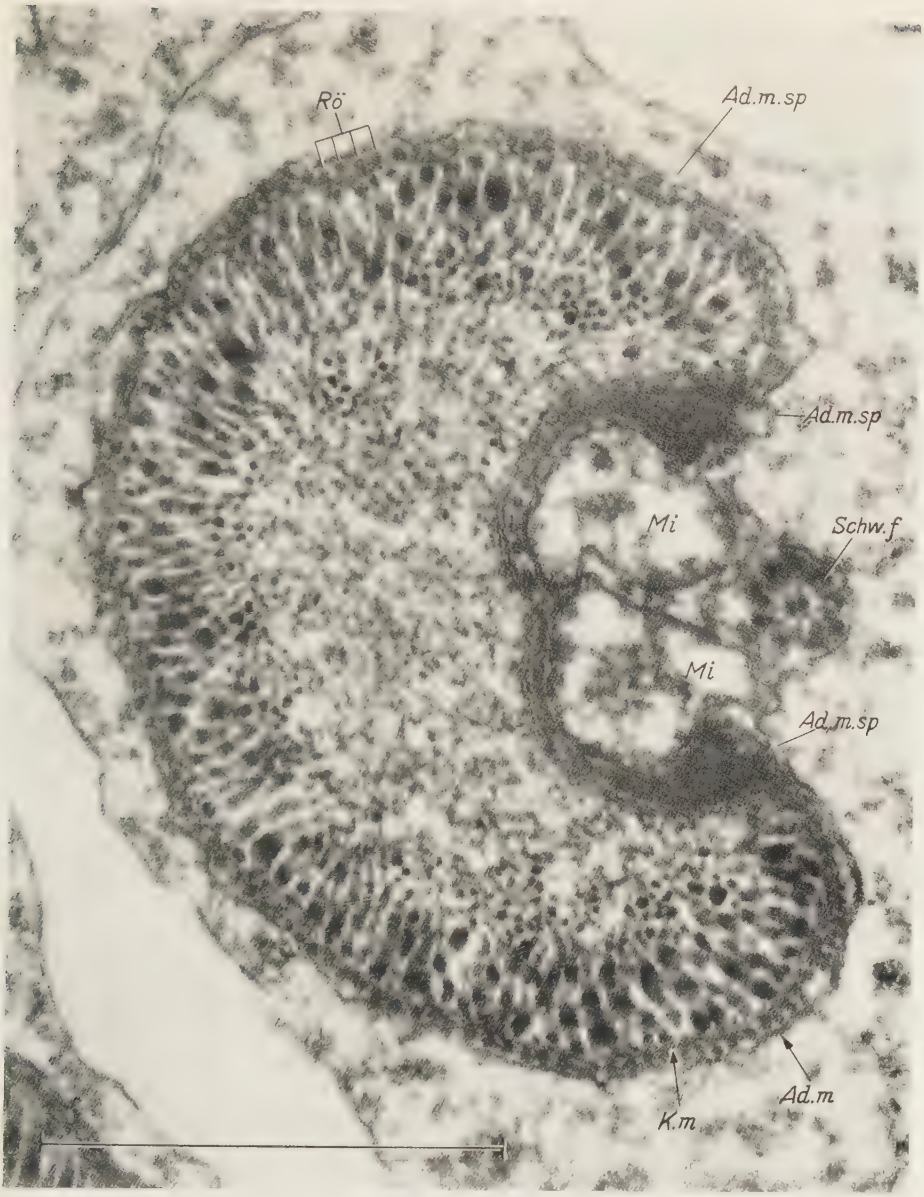

Abb. 11. Sobald die Streckung der Radialstränge beendet ist, verkleben ihre nun geradlinig in den Kern einstrahlenden Elemente zu kompakten Mizellen. Einige reichen bis in das Zentrum des Kernes hinein, die Mehrzahl endet in 0,2—0,3 μ Abstand von der Kernmembran. *Ad. m.* Additionsmembran. *Ad. m. sp.* Aufspalten der Additionsmembran. *K. m.* Kernmembranen. *Mi.* Mitochondrien. *Rö* Röhrchenschicht

produkt handeln. Denn einmal erkennt man zahlreiche Stellen, an denen die Membran vorübergehend aufspaltet (*Ad. m. sp.*) und ihre Zweischichtigkeit verrät, zum anderen ist der Schwanzfaden, wie sich besser mit anderer Technik darstellen läßt (Abb. 7b: Verfahren 1c, Araldit gegenüber 2a, Methacrylat in Abb. 11) von einer ER-Zisterne umhüllt, also von zwei Membranen. Die

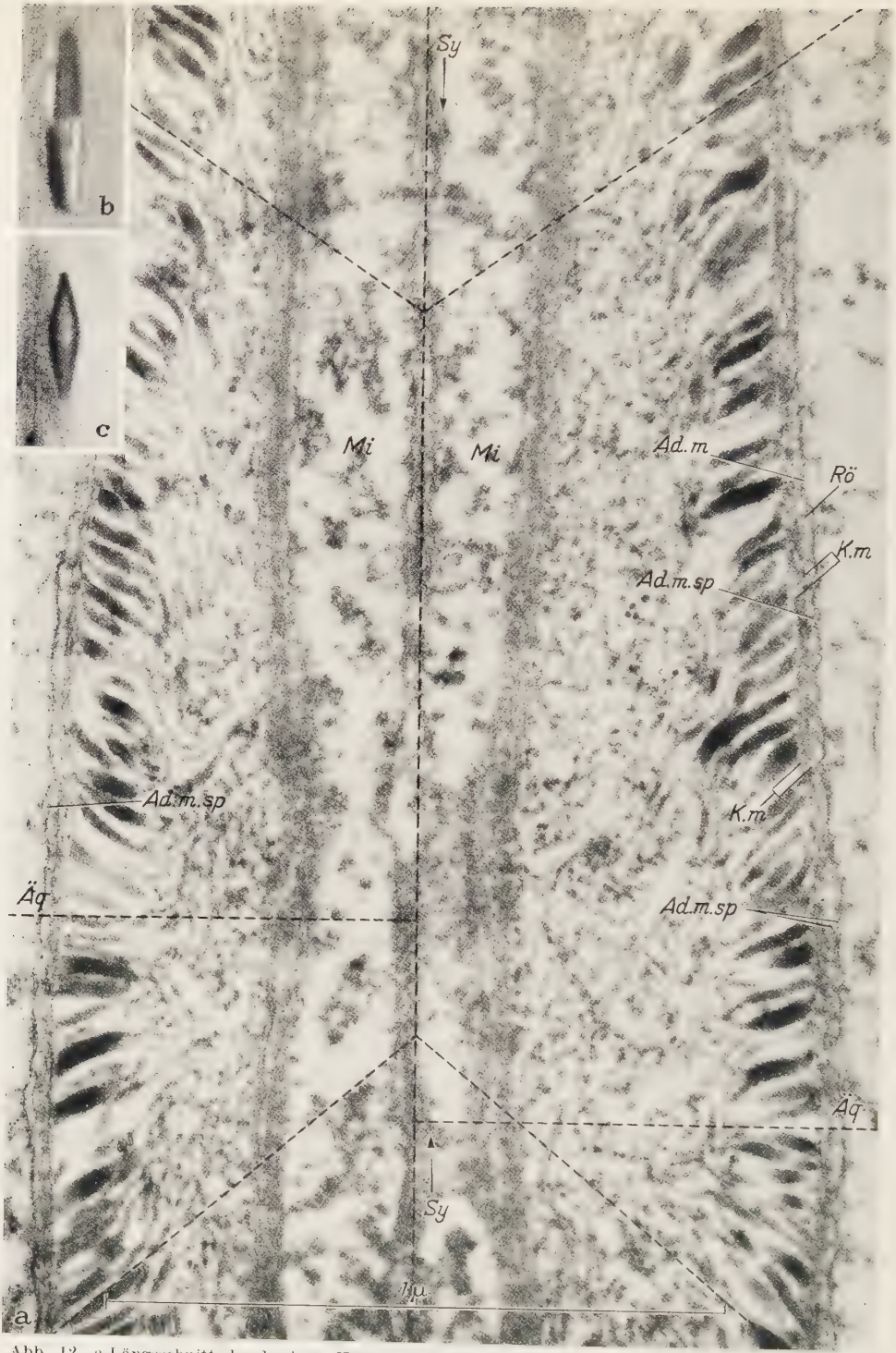

Abb. 12. a Längsschnitt durch einen Kern desselben Alters wie in Abb. 11. Die Orientierung der Radialmizelle (gestrichelte Linie) stimmt überein mit der Lage der Indikatrix (Abb. 12b, vgl. Abb. 3 und 4). b Gleichalter Kern im polarisierten Licht, kompensiert. c Gleichalter Kern, nach Feulgen gefärbt. *Ad. m.* Additionsmembran. *Ad. m. sp.* Aufspalten der Additionsmembran. *Äq.* Äquator des Spermatidenkernes. *K. m.* Kernmembranen. *Mi.* Mitochondrien. *Rö.* Röhrchenschicht. *Sy.* Symmetrieebene

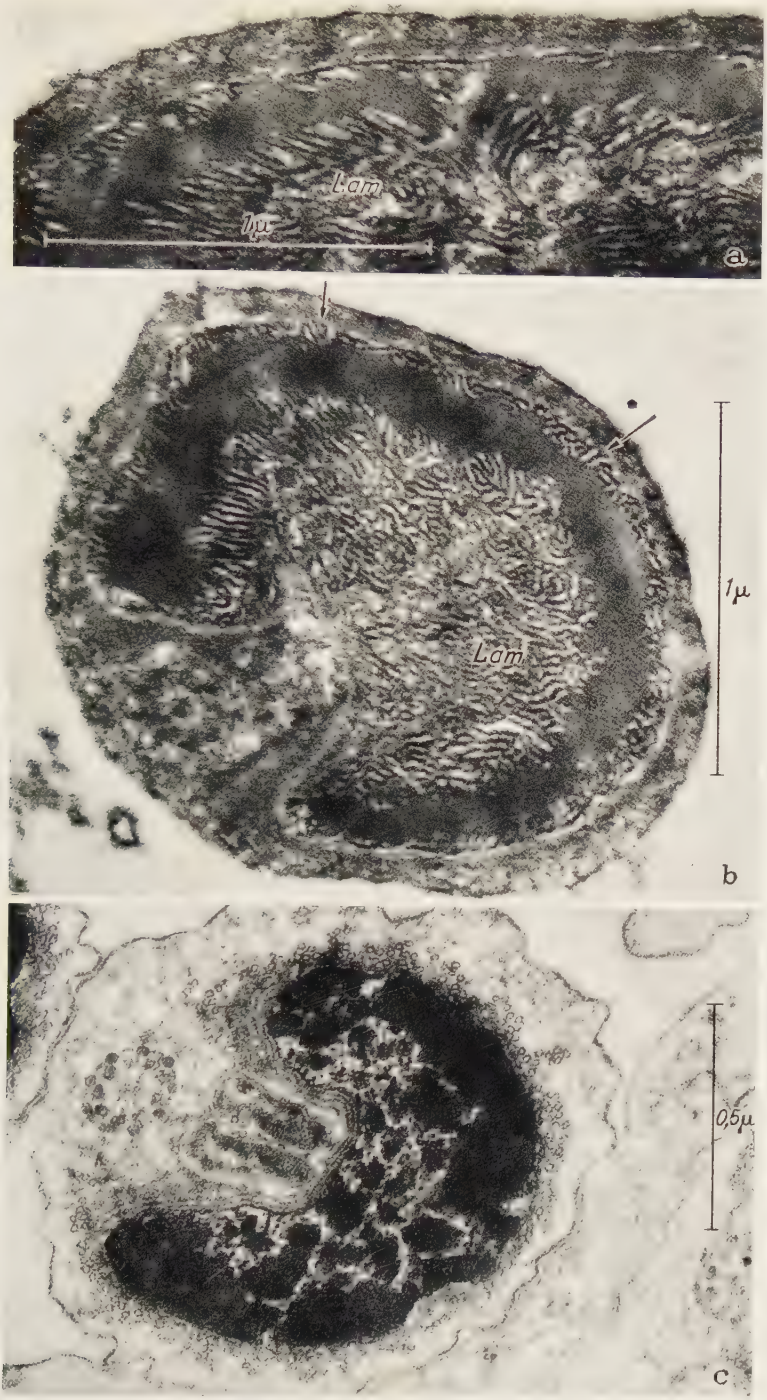

Abb. 13. a Mit fortschreitender Kondensation des Chromatins tritt ein kompakter Chromatinring an der Kernperipherie auf. Im Zentrum des Kernes ist die Filamentdichte wesentlich geringer. Dort entstehen Lamellen. Schrägschnitt. b Querschnitt durch dasselbe Stadium. Die Zone größter Chromatindichte endet in 0,2—0,3 μ Abstand von der Kernmembran. Dicht unterhalb der Kernmembran und in der Kernmitte Chromatinlamellen. c Querschnitt, älterer Spermatidenkern. Die Lamellen des Kerninneren haben sich wieder aufgelöst. *Lam.* Lamellenzone in Kernmitte

Verhältnisse sind indessen noch ungeklärt. Denn in Abb. 9b liegt unmittelbar über der äußeren Kernmembran, ohne daß eine Röhrchenschicht vorhanden wäre, eine durchaus nur einschichtige Additionsmembran. Andererseits zeigt ein Längsschnitt (Abb. 12, Verfahren 2a) durch eine der Abb. 11 vergleichbare Zelle wieder eine einschichtige, jedoch mehrfach aufspaltende Additionsmembran (*Ad. m. sp.*). Älteren Spermatiden mit ihrer dicken Röhrchenmanschette fehlt eine Additionsmembran.

Stellt man einen Längsschnitt durch Spermatidenkerne dieses Alters her, so tritt die Übereinstimmung zwischen Richtung der großen Achse der Indexellipse einerseits und Orientierung der Chromatinmizelle andererseits besonders klar zutage (Abb. 12). Die Chromatinmizelle nehmen ihren Anfang in etwa 100 AE Abstand von der inneren Kernmembran (*K. m.*), ohne daß eine besondere Tangentialschicht erkennbar wäre, strahlen mit gleichbleibendem Durchmesser über eine Strecke von etwa 0,15 μ nahezu radial in das Kernlumen ein und enden in langen, wesentlich dünneren Fäden, die im Zentrum des Kernes lockere Geflechte bilden. Im Mittelabschnitt des Spermienkopfes stehen die dicken peripheren Chromatinstränge auf der Kernachse (Abb. 12, gestrichelte Linie *Sy—Sy*) senkrecht (quer dazu verlaufende gestrichelte Linien $\mathcal{J}q$—$\mathcal{J}q$). Gegen die Spitzen des Zellkernes hin bilden sie mit der Kernachse Winkel von 30—40 Grad (Abb. 12, schräg liegende gestrichelte Linien).

Je mehr sich der Spermatidenkern streckt, umso stärker kondensiert das Chromatin. Dabei werden zunächst die einzelnen Stränge dicker (Abb. 13a) und verschmelzen miteinander. Dieser Prozeß führt schließlich dazu, daß die 0,15 μ breite Randzone des Kernes aus einem nahezu lückelosen Chromatinsaum besteht (Abb. 13b). Die weiter zentral gelegenen dünnen Chromatinfäden (Abb.11, 12) ordnen sich um und kristallisieren vorübergehend zu etwa 200 AE breiten Lamellen aus (Abb. 13b: *Lam.*). Aber auch an der äußersten Peripherie des Chromatinsaumes treten Lamellen auf. Sie verlaufen entweder radial und enden unter der Kernmembran (Abb. 13a, b: Pfeile), oder sie liegen tangential. Dann biegen sie gelegentlich um und laufen radial weiter.

Nach einiger Zeit verschwinden die Chromatinlamellen wieder (Abb. 13c). Im Zentrum des nun sehr langgestreckten Zellkernes (vergl. Abb. 2g) erscheinen jetzt Bündel aus dünnsten Fäden. Immer noch ist die unter der Kernmembran liegende Chromatinzone wesentlich dichter als das Zentrum des Kernes.

Der Durchmesser des Spermatidenkernes hat gegenüber jüngeren Stadien (Abb. 13c gegen Abb. 7b) etwa um die Hälfte abgenommen. Dadurch ist auch der Kernumfang kleiner geworden. Der periphere Röhrchenkranz, der zu Anfang einschichtig war, hat sich dabei zu einer lockeren mehrschichtigen Manschette (Burgos und Fawcett 1956) zusammengeschoben.

Reife Spermienköpfe unterscheiden sich von dem in Abb. 13c dargestellten Stadium vornehmlich durch ihre weit größere Dichte, deretwegen auch in der Kernmitte keine hellen Bezirke mehr zu erkennen sind. Sie werden hier nicht abgebildet.

C. Die meiotische Prophase. Hilfsstrukturen für die Chromosomenpaarung

Die Paarung der homologen Chromosomen beginnt bei vielen Organismen, so z. B. bei *Helix pomatia*, mit einer Parallelorientierung ihrer langen dünnen Schenkel.

Nähern sich homologe Abschnitte zweier Chromosomen soweit, daß sie für das Lichtmikroskop kaum mehr als einzelne Stränge zu erkennen sind, so ist der Übergang vom Leptotän zum Zygotän vollzogen. Sobald die Paarung abgeschlossen ist, verkürzen sich die nun bivalenten Chromosomen und gehen in das Pachytän über. Dabei erscheinen auf ihnen in unregelmäßigem Abstand voneinander Verdichtungszonen wechselnder Größe. Es sind die Chromomeren. Zwischen den homologen Chromosomen werden gelegentlich äußerst schmale Spalträume sichtbar.

Dies Stadium wird für längere Zeit beibehalten. Danach kommt es zu einem leichten Auseinanderweichen der homologen Chromosomen, das mit einer weiteren Verkürzung einhergeht. Schließlich streben die Kinetochorenpaare der Homologen vollends auseinander. Die Schenkel folgen nach, Diakinase und 1. Reifeteilung setzen ein.

Bei *Gryllus* weichen Leptotän und Zygotän von dem hier beschriebenen Formwechsel stark ab. Es soll nicht näher darauf eingegangen werden. Das Pachytän dagegen wird in typischer Weise ausgebildet. So ist z. B. ein Längsspalt in bivalenten Pachytänchromosomen durchaus erkennbar. Weniger ausgeprägt ist die vielfach beschriebene Beerenform der Chromomeren. Man hat vielmehr den Eindruck, als seien die Chromosomen in unregelmäßiger Reihenfolge mit längeren und kürzeren, zur Chromosomenachse hin stärker kondensierten Seitenzweigen besetzt. Diese Erscheinung ist in der frühen Diakinese noch besser zu erkennen. Eine genaue Analyse verbietet indessen das begrenzte Auflösungsvermögen des Lichtmikroskopes.

Abweichend von den Pachytänkernen mancher anderen Organismen enthalten diejenigen von *Gryllus* nahe der Kernmembran einen stark kondensierten feulgenpositiven Körper. Da das Grillenmännchen 10 Autosomen und ein Heterochromosom besitzt, wird angenommen, daß es sich hierbei um das Geschlechtschromosom handelt. Diese Ansicht wird dadurch gestützt, daß das X-Chromosom der Grille 3—4 mal so groß ist wie ein Autosom. Vor allem aber findet man ähnliche feulgenpositive Körper stets in zwei der vier aus den Reifeteilungen hervorgehenden Spermatidenkerne.

Dünnschnitt-Elektronenbilder von Pachytänkernen zeigen die bereits bekannte Struktur des synaptinematischen Komplexes (Moses 1958a, b und andere). Beiderseits eines dunklen etwa 500 AE breiten Bandes, Core genannt, befindet sich je eine helle Zone (Abb. 14: S. c. 1, 2). Diese Zonen werden transversal von feinsten Filamenten durchzogen (Abb. 14: *S. c. 2*, Abb. 15). Nach außen zu werden sie begrenzt von dicken dunklen Bändern (*S. c. 1*) oder ausgedehnten dunklen Massen (*S. c. 2*). Während sich das zentrale 500 AE-Band gelegentlich aus mehreren Längselementen, in anderen Fällen aus Querelementen aufzubauen scheint, jedenfalls aber geordnete Struktur enthält, bestehen die peripheren dunklen Massen, soweit das Auflösungsvermögen reicht, aus scheinbar regellos durcheinanderliegenden Filamenten.

Einige Abschnitte synaptinematischer Komplexe sind in dieser Abbildung längs, andere schräg oder fast quer getroffen (Abb. 14, *S. c. 3*). Solche Befunde sprechen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (vergl. z. B. Ris 1956) dafür, daß der synaptinematische Komplex eine disymmetrische Struktur besitzt. Würde man ihn um 90 Grad in der Papierebene drehen und dann längs

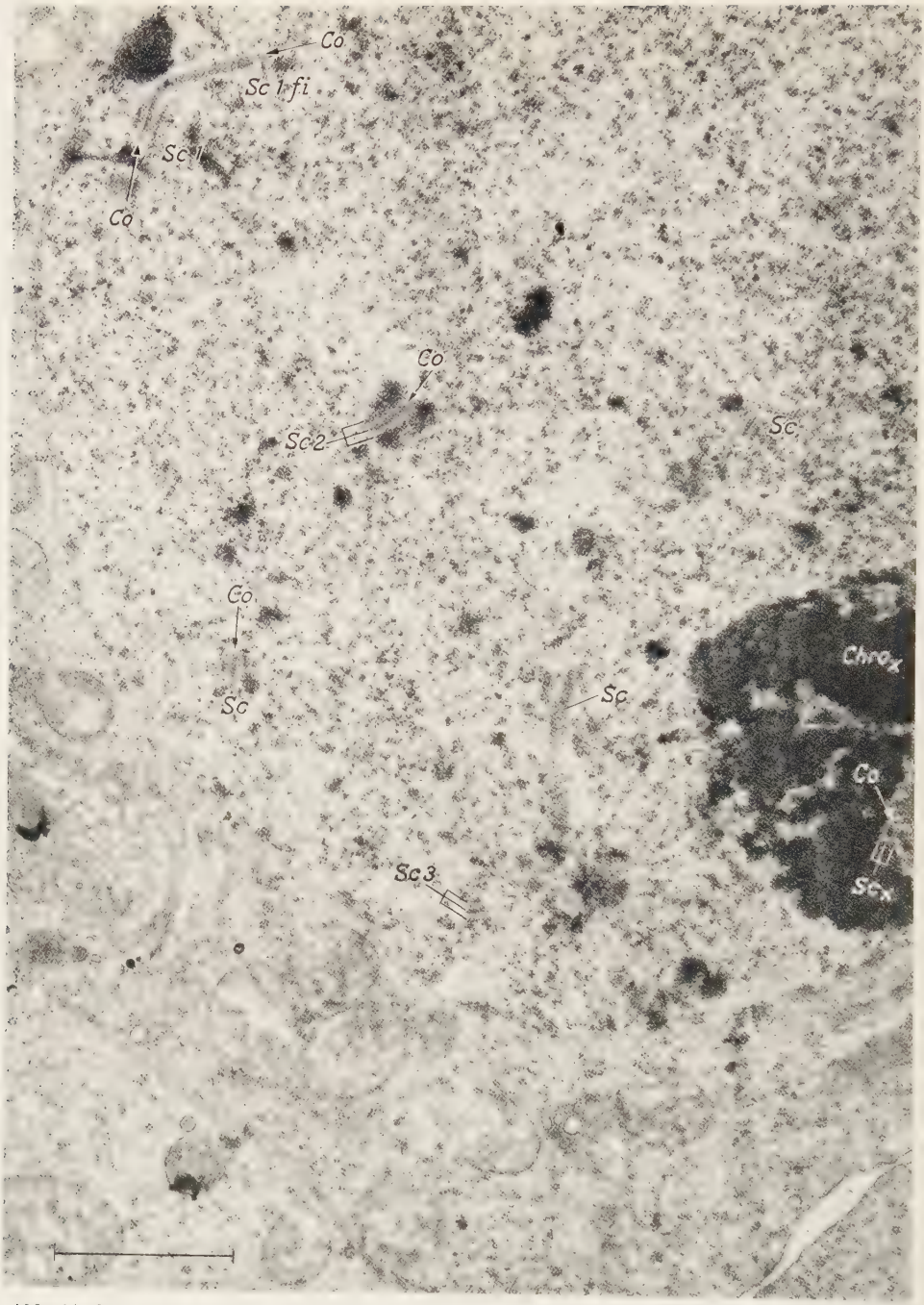

Abb. 14. Pachytänkern mit X-Chromosom. Man erkennt auch im X-Chromosom synaptinematische Komplexe. *Chro$_x$.*: X-Chromosom. *Co.*: Core. *Sc* Synaptinematischer Komplex. *Sc. 1 fi.* scheinbar längs verlaufende Filamente im synaptinematischen Komplex

schneiden, dann müßten die peripheren dunklen Bänder fehlen und unter Umständen nur der zentrale Kern, das Core, erscheinen. Das ist der Fall. Das Fibrillenbündel (*S. c. 1, fi.*), welches sich über dem Komplex S. c. 1 befindet, könnte ein auf diese Weise längsgetroffenes Core darstellen.

Besondere Beachtung verdient das Heterochromosom. Die dunkle Masse $Chro_x$ (Abb. 14), die offenbar einen Teil des X-Chromosoms eines Pachytänkernes darstellt, ist durch lange, schmale, mit feinfädiger Substanz erfüllte Kanäle zerklüftet. In ihnen liegen hier und da Abschnitte von synaptinematischen Komplexen ($S. c._x$).

Andere Kerne zeigen diese Erscheinung deutlicher (Abb. 15b, $Chro_x$, $S. c._x$ *1*, $S. c._x$ *2*, Abb. 15a). Die Ähnlichkeit dieser Strukturen mit dem synaptinematischen Komplex anderer Chromosomen des Pachytäns ist groß. Hier verbinden anscheinend transversale Filamente das eine periphere dunkle Band mit dem gegenüberliegenden (Abb. 15a, linke Hälfte, Abb. 15b: $S. c._x 2$). Im Bereich des zentralen Cores (*Co*) besitzen die transversalen Filamente außerdem mehr Substanz als in der zu beiden Seiten anschließenden helleren Zone. Man ist deshalb versucht, die feine Querstreifung des Cores (Abb. 15a: Harke) zu diesen transversalen Filamenten in Beziehung zu setzen.

Die Querstreifung des Cores ist jedoch in den beiden beschriebenen Bildern nur undeutlich zu erkennen. Besser ist sie in Abb. 16 dargestellt. Hier wurde ein bivalentes Chromosom über eine große Strecke längs getroffen. Das Bild läßt sich deuten, wenn man annimmt, daß sich das Chromosom vom Bereich 1 bis zum Bereich 2 mehrmals um seine Längsachse gedreht hat. Denn nur in der Nähe von 1 sind das Core und die beiden peripheren hellen und dunklen Bänder des synaptinematischen Komplexes deutlich zu erkennen. Schon 0,5 μ weiter nach oben ist der offenbar um seine Längsachse gedrehte Komplex so getroffen worden, daß das Core allein in Erscheinung tritt. Stärkere Vergrößerungen (Abb. 16b) zeigt, daß es sich aus zwei bis drei Punktreihen (linke Hälfte) oder transversalen Strichen (Gabeln) zusammensetzt. Die Querperiode beträgt etwa 85 AE. Obwohl demnach alles auf Querstrukturen hindeutet, ist doch eine gewisse Längstendenz unverkennbar (rechte Hälfte, Pfeil). Diese Längstendenz wird durch hintereinander aufgereihte Punkte hervorgerufen.

Wie in diesem Zusammenhang breite Fibrillenbänder zu deuten sind, die in unmittelbarem Zusammenhang mit einem stark verdrillten synaptinematischen Komplex stehen und halbschräg aus ihm hervorragen, ist noch unklar (Abb. 16c). Solche Strukturen sind jedoch selten.

Dort, wo die Schnittebene den synaptinematischen Komplex verlassen hat (Abb. 16a, linke Hälfte unten), stößt man auf mehrere hintereinanderliegende Paare von Chromatinbrocken. Es könnte sich um Chromomeren handeln. Möglich ist aber auch, daß die beiden Seiten des bivalenten Chromosoms an sich verhältnismäßig gleichförmig mit Chromatin besetzt sind und sich das ganze Chromosom zwischen zwei benachbarten Paaren nur um 180 Grad oder ein ganzzahliges Vielfaches davon um seine Längsachse verdrillt hat.

Man sollte erwarten, daß synaptinematische Komplexe ausschließlich in der meiotischen Prophase vorkommen und dort, falls es sich um XO-Männchen handelt, auf die Autosomen beschränkt sind. Das ist nicht so. Ja, man findet sehr

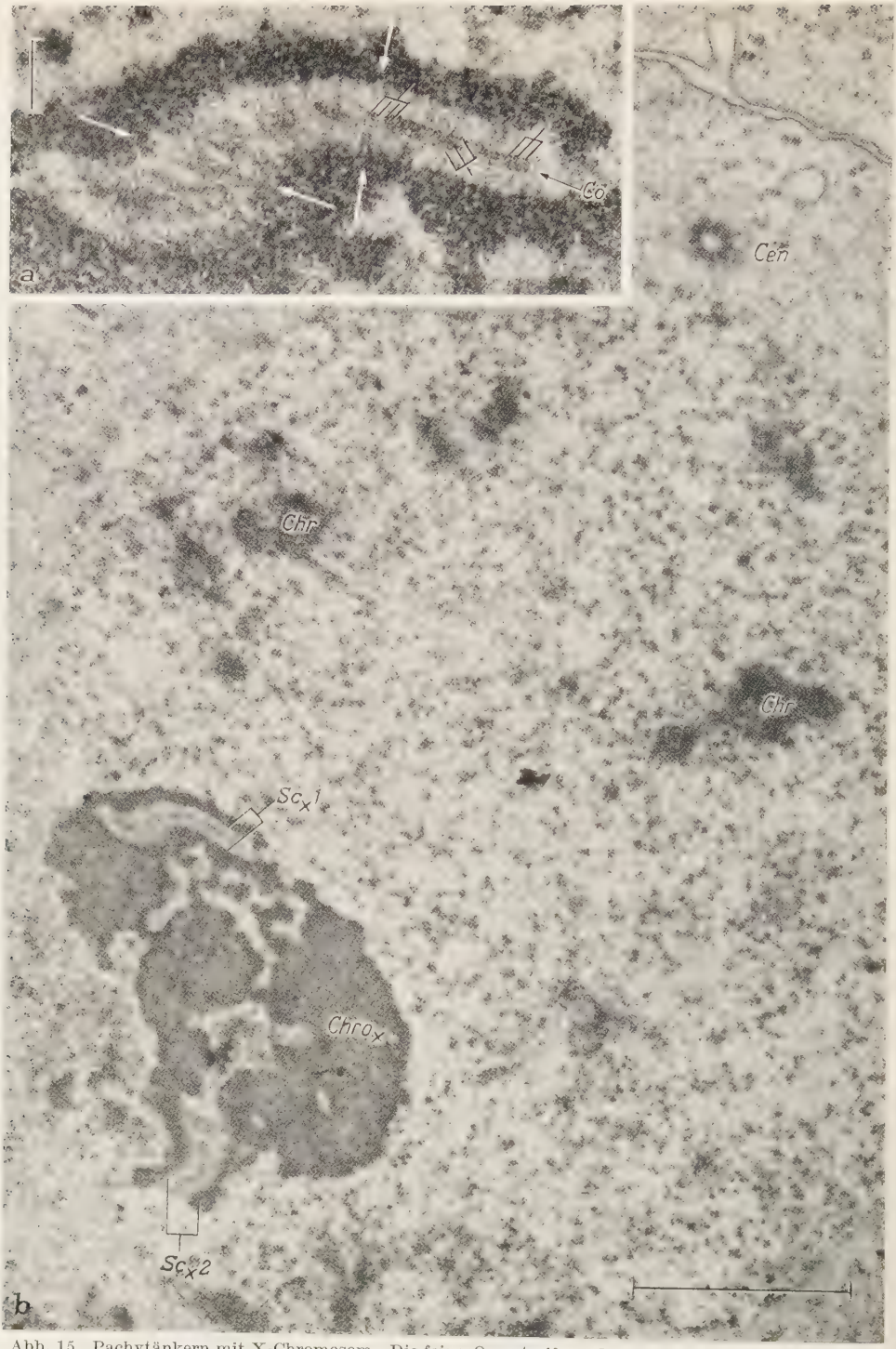

Abb. 15. Pachytänkern mit X-Chromosom. Die feine Querstreifung des synaptinematischen Komplexes wird durch Transversalfilamente hervorgerufen. Beachte, daß die in der Mitte des Komplexes befindlichen Abschnitte der Transversalfilamente offenbar dicker sind als an den Rändern. Obwohl selbst das Core eine feine Querstreifung trägt, scheint es andererseits eine Längsstruktur zu enthalten (a: bei *Co* und der einen Dreifachgabel). *Chr.* Chromatin. *$Chro_x$.* X-Chromosom. *Cen.:* Centriol. *Co.:* Core. *Sc_x.:* Synaptinematischer Komplex des X-Chromosoms

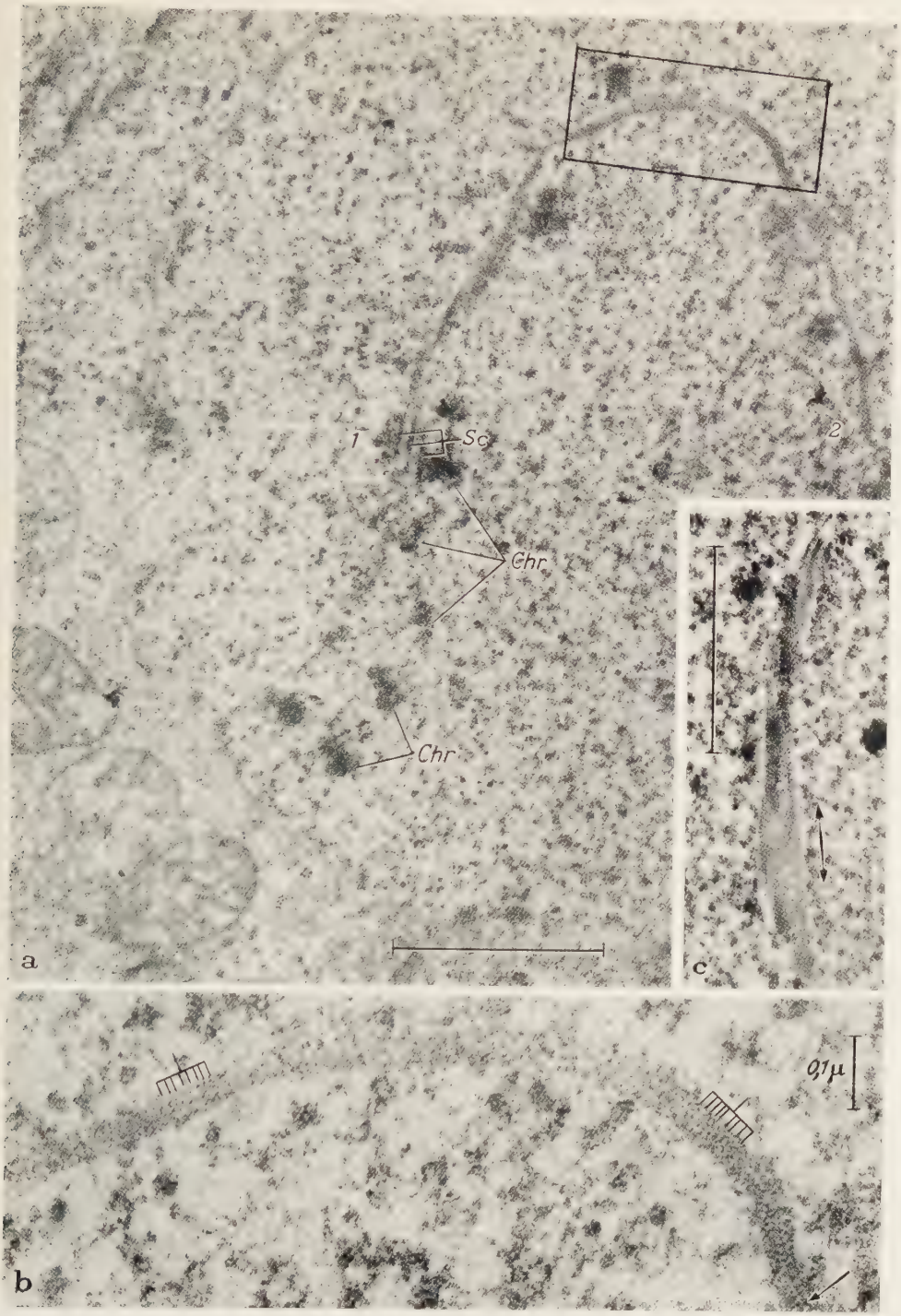

Abb. 16. a Pachytänkern mit besonders schönem synaptinematischem Komplex, der teils in der einen, teils in der darauf senkrecht stehenden anderen Symmetrieebene längs geschnitten ist. b Ausschnitt von a stärker vergrößert. Das Core setzt sich aus zahlreichen quer zur Längsachse verlaufenden Filamenten zusammen. Sie halten etwa 85 ÅE Abstand voneinander (Gabel). Sie liegen (rechte Hälfte) so hintereinander, daß gelegentlich der Eindruck entsteht, das Core enthalte Längsfilamente. c stark verdrillter synaptinematischer Komplex. *Chr.* Chromatin. *Sc.* Synaptinematischer Komplex

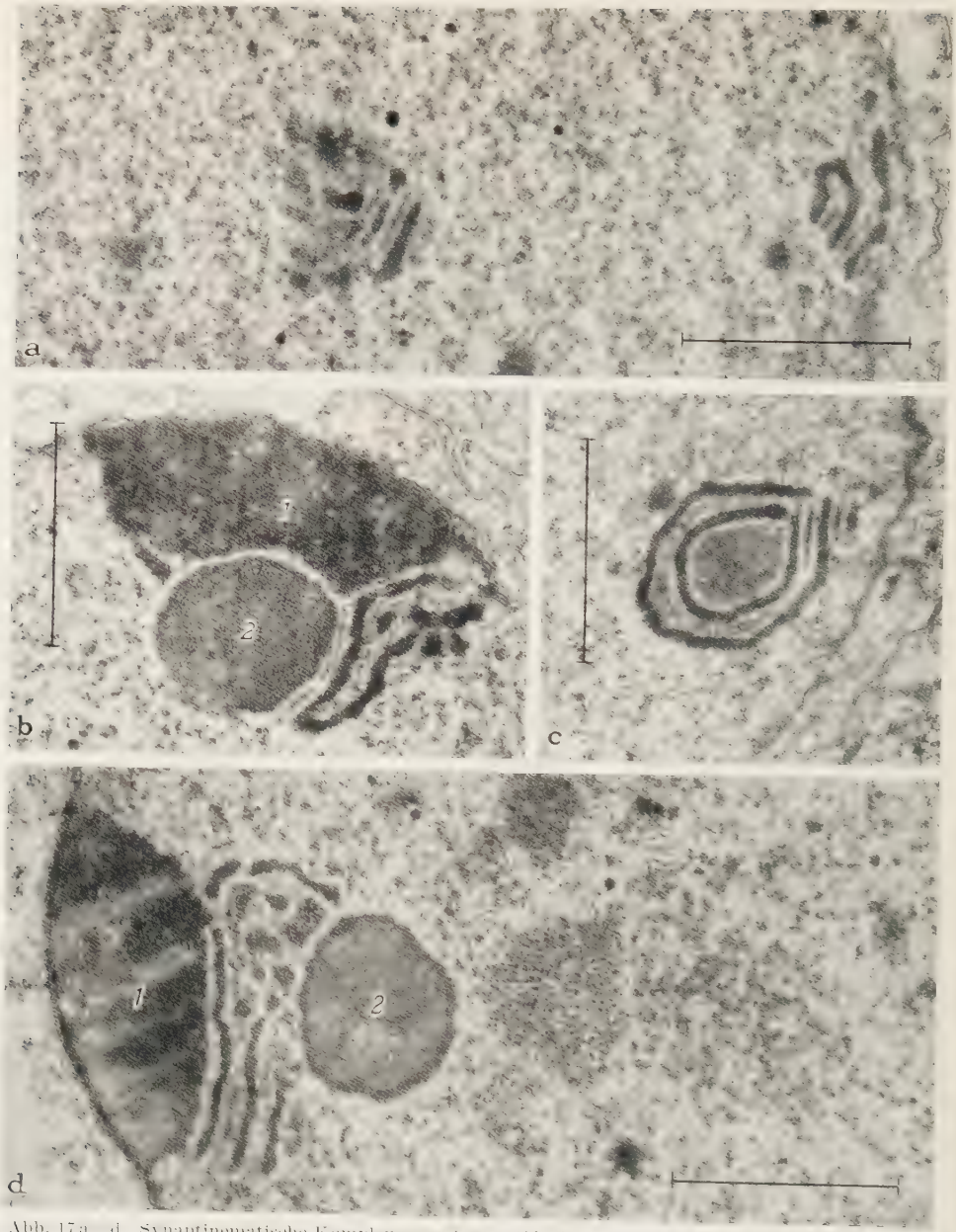

Abb. 17a—d. Synaptinematische Komplexe aus Spermatidenkernen. Sie stehen (b—d) mit Ansammlungen von teils fibrillärem (*1*) teils granulärem (*2*) Material in Verbindung. *1:* Chromatinartiges fibrilläres Kondensat. *2:* Nukleolus-artiges granuläres Kondensat

ähnliche Strukturen nicht nur in dem univalenten, aber aus zwei Schwesterchromatiden zusammengesetzten X-Chromosom des Pachytäns sondern auch in jeweils zwei der vier aus der Meiose hervorgegangenen Sperrmatidenkernen. Dafür gibt Abb. 17 ein Beispiel. Dort sind insgesamt vier Ausschnitte von Spermatiden-

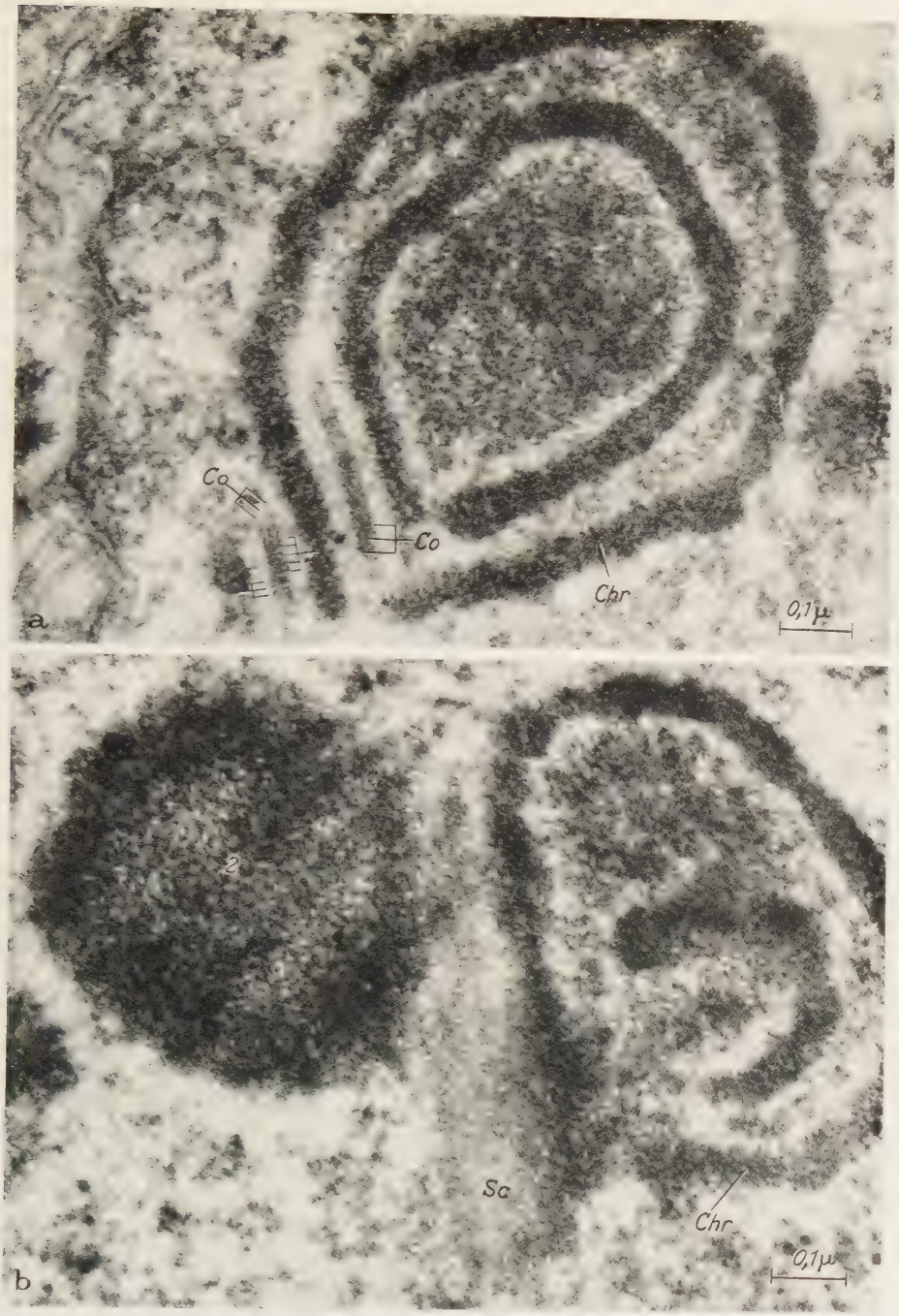

Abb. 18a u. b. Wie Abb. 17. Auch hier sind die synaptinematischen Komplexe von Transversalfilamenten durchzogen (b), die auf dem „Core" eine feine Querstreifung hervorrufen (Harke), gleichzeitig aber den Eindruck einer Längsstreifung (3-fach-Gabel) erwecken. *Chr.* Chromatin. *Co.* Core. *?* Nukleolus-artiges granuläres Kondensat. *Sc.* Synaptinematischer Komplex

kernen dargestellt. Man erkennt in allen Kernen Strukturen, die sich formal am besten als nebeneinanderliegende synaptinematische Komplexe beschreiben lassen. Core-artige Gebilde werden beiderseits flankiert von hellen, transversale Elemente enthaltenden Bändern. Diese wieder grenzen an dunkle Bänder, die sich aus wirr durcheinanderliegenden feinfädigen Massen zusammensetzen. Es folgt das helle Band der benachbarten Struktur, deren Core und so fort. Man findet diese Gebilde nahe der Kernmembran oder unmittelbar an sie anschließend (Abb. 17b—d), gelegentlich auch im Zentrum des Kernes (Abb. 17a, Mitte). Sie grenzen auf der einen Seite an ausgedehnte dunkle, von feinfädiger Substanz wirr durchzogene Massen (Abb. 17b, d: 1). Auf der anderen Seite schließt ein mehr rundlicher Körper an (Abb. 17b: 2), dessen körnige Struktur eher für einen nukleolus-artigen Aufbau spricht.

Die strukturelle Übereinstimmung mit dem synaptinematischen Komplex geht so weit, daß sich in den Cores dieser Gebilde ebenfalls feine Querstreifungen mit einer Periode von 80—90 AE (Abb. 18a: Harke), gleichzeitig aber eine unverkennbare Longitudinalstreifung (Gabel *Co*) findet und an anderer Stelle (Abb. 18b) zwischen gegenüberliegenden amorphen dunklen Bändern transversale Filamente auftreten, deren Abstand voneinander, gemessen von Mitte zu Mitte, ebenfalls 80—90 AE beträgt.

Noch bevor das Chromatin beginnt, sich unter der Kernmembran anzuordnen, werden die synaptinematischen Komplexe der Spermatidenkerne aufgelöst.

Besprechung der Ergebnisse

A. Die Hüllmembran des Spermatidenkernes

Während der Telophase 2 sammeln sich Membransysteme des Endoplasmatischen Reticulums an der Oberfläche des aus kondensierten Chromosomen zusammengesetzten Chromatinklumpens an, verschmelzen miteinander und bilden die beiden Kernmembranen. Der Golgi-Apparat, zusammengesetzt aus mehreren halbkreisförmigen dicht aufeinandergepackten membranbegrenzten Lakunen sowie aus zahlreichen Vesiculi, ist nun voll ausgebildet. In seinem Zentrum entwickelt sich, umhüllt von einer weiteren Membran, das Proakrosom-Granum (Kaye 1962). Sobald es einen Durchmesser von etwa 1 μ erreicht hat, legt es sich der Kernmembran an. Kurze Zeit zuvor ist zwischen ihm und der Kernmembran eine dunkle etwa 150 AE starke granatragende Schicht, die interstitielle „Membran" (Kaye 1962), entstanden. Der Name „Membran" ist ein wenig irreführend, da es sich um eine Schicht aus feinfädigem Material handelt. Diese interstitielle Schicht breitet sich wie ein Tuch über die äußere Kernmembran aus und wächst an ihr nach allen Seiten etwa 1 μ weit entlang. Ihre letzten Ausläufer sind in Abb. 7a zu erkennen. Der Prozeß beginnt etwa zu dem Zeitpunkt, wo sich die Chromosomen des Telophasekernes auflockern und das Karyoplasma noch einmal eine typische Interphasekonfiguration einnimmt, also zwischen den in Abb. 5 und 6 abgebildeten Stadien. Er ist offenbar beendet, sobald sich das Chromatin unter der Kernoberfläche angesammelt hat (Abb. 7a).

Kurze Zeit später tritt an der restlichen Kernoberfläche eine 60—70 AE breite glatte membranartige Schicht auf (Abb. 9b: *Ad. m.*) Es sieht bisweilen aus, als bilde sie sich spontan aus dort lagerndem amorphen Material (Abb. 9b: *Ad. m.* ?).

Diese „Additionsmembran" legt sich unmittelbar der äußeren Kernmembran an. Dort, wo die beiden Kernmembranen umbiegen und eine Falte für das Mitochondrienpaar und den Schwanzfaden bilden, verläßt die Additionsmembran die Kernmembran und tritt mit der Hüllmembran des Schwanzfadens in Verbindung (Abb. 9b, doppelt geschwänzter Pfeil *Ad. m.*).

Die weiteren Verhältnisse sind unübersichtlich. Fixiert man mit Na-reicher OsO_4-Lösung, kontrastiert mit Uranylacetat nach und bettet in Araldit ein, dann ist der Schwanzfaden von einer typischen ER-Zisterne eingehüllt, die nach beiden Seiten in Richtung auf die Kerngrenze flache Säcke abfaltet (Abb. 7b). Fixiert man aber mit Ca-reicher OSO_4-Lösung, kontrastiert mit Phosphorwolframsäure nach und bettet in Methacrylat ein (Abb. 11), dann ist die den Schwanzfaden umgebende Zisterne stark kollabiert und nur gelegentlich erkennt man an vorübergehendem Aufspalten der Schicht, daß es sich um zwei Membranen handeln dürfte. Da andere Methacrylateinbettungen nach Na-reicher OsO_4-Fixierung beide Schwanzfaden-Hüllenmembranen deutlich zeigen, so ist es möglich, daß die Zisterne infolge des Ca-Reichtums der Fixierlösung kollabierte.

Etwa zu der Zeit, in der sich die Chromatinmassen zu ordnen beginnen und ihre Stränge radial in das Kernlumen hineinsenden, wird die äußere Kernmembran mit einer Röhrchenschicht überzogen. Es kann nun geschehen, daß sich kurz darauf über diese Röhrchenschicht eine Membran spannt, die ebenfalls mit der Hüllmembran des Schwanzfadens in Verbindung steht. Sie ist, wenigstens nach Ca-reicher OsO_4-Fixierung, Nachkontrastierung mit Phosphorwolframsäure und Einbettung in Methacrylat, zwar scheinbar einschichtig, verrät aber durch gelegentliches Aufspalten ihre Zweischichtigkeit (Abb. 11). Ist diese Membran vorhanden, so fehlt die oben beschriebene, der Kernmembran anliegende Additionsmembran (Abb. 9b). Reife Spermien besitzen weder die eine noch die andere Additionsmembran, sondern sind nur von einer mehrreihigen Röhrchenmanschette eingehüllt. Die Schwanzfadenhüllenmembranen sind dagegen auch bei reifen Spermien vollständig ausgebildet. Das Ganze sieht so aus, als befände sich an der Oberfläche der Spermatidenkerne zur Zeit der Röhrchenbildung ein Material, welches sich vorübergehend zu Membranen aggregieren kann.

B. Die Anordnung des Chromatins im Spermatidenkern

1. Literaturübersicht. Die Gestalt reifer Spermien reicht von amöbenartigen Spermazellen der Cladoceren, den sternförmigen Samenzellen der Dekapoden, birnenartigen Gebilden der Ascariden bis zu den mehr oder weniger begeißelten Spermien der Mollusken, Spinnen, Insekten und Vertebraten (Buchner 1915, Bělar 1928, Ries u. Gersch 1953). Die geißeltragenden Samenzellen zeigen trotz weiterer sehr großer Unterschiede der Körperform einige Gemeinsamkeiten in ihrer Grundgestalt. An der Spitze des chromatinhaltigen, den Zellkern darstellenden Kopfes sitzt bei großer Variabilität in Einzelheiten das Akrosom. An der Basis des Kernes, nicht selten auch an seiner Seite oder dicht unter seiner Spitze, haftet das Centriol. Aus ihm geht die Achse des Schwanzfadenbündels hervor. Vom Centriol bis etwa zur doppelten Kernlänge caudalwärts ist der Spermienschwanz zu dem das Chondriom enthaltenden Mittelstück verdickt.

Die Form des Spermienkopfes ist (Pattri 1932) rundlich bis abgeplattet bei *Homo*, *Bos*, *Cavia*, *Canis*, *Dytiscus*, kugelig bei *Arenicola*, *Mytilus*, *Mactra*, *Gasterosteus*, nadelförmig bis pfriemförmig bei *Lumbricus*, *Liogryllus* (= *Gryllus*), *Apis*, *Naucoris*, aber auch bei *Rana*, *Molge* und *Lacerta*. Im Allgemeinen gilt, daß rundliche bis kugelförmige Spermienköpfe nicht doppelbrechend sind, langgestreckte Kerne, aber eine ausgesprochene Eigendoppelbrechung besitzen. Eine Ausnahme hiervon bilden die Spermien der von Pattri nicht untersuchten

Periplaneta. Diese sind mehrmals so lang wie breit, enthalten aber ein regelloses Flechtwerk von Chromatinfäden (Ris 1958). Sie sollten deshalb isotrop sein.

Mindestens ebensogroße Unterschiede wie in der Form der Spermienkerne gibt es in der Einordnung des Chromatins in den Kern. Hierbei kommt es selbst innerhalb von engen systematischen Kategorien zu beträchtlichen Abweichungen. So scheinen die makromolekularen Elemente des Chromatins von *Romalea* (Ris 1958), *Chortophaga* (Dass und Ris 1958) und *Melanoplus* (Gall und Björk 1958) Membranen angeheftet zu werden, welche sich von der oder den Kernmembranen abfalten und den Kern in zahlreiche Kammern aufteilen. Diese verengen sich dann zu Röhrchensystemen, die auf Querschnitten wie Honigwaben aussehen (Gibbons und Bradfield 1957: *Locusta*). Schließlich wird das Ganze bei weiterem Wasserverlust unauflösbar dicht. Dagegen faltet sich die Kernmembran der ebenfalls zu den Orthopteren gehörigen Hausgrille (*Gryllus domesticus*) nicht in dieser Weise ein, sondern die makromolekularen Elemente des Chromatins haften an einer tangentialen Hilfsstruktur, welche die innere Kernmembran überzieht. Spermienkerne von Heuschrecken sind negativ doppelbrechend in Bezug auf ihre Längsachse. In den Spermienkernen von *Gryllus* ist die Schwingebene des langsamen Strahles rund um die morphologische Achse des Kernes gegen diese geneigt. Nur an der Spitze und Basis des Kernes steht die Kernachse auf ihr senkrecht.

Innerhalb der Klasse der Mollusken gibt es Ähnlichkeiten in der Intimstruktur der Spermatidenkerne zwischen Cephalopoden (*Loligo*, *Octopus*, *Sepia*: Ris 1958) und Gastropoden (*Cipangopaludina* Yasuzumi und Tanaka 1958, *Helix:* Grassé et al. 1956, Rebhun 1957). Hier sitzt das Centriol einigermaßen caudal in einer Grube des Kernes. Die Chromatinfilamente durchziehen den Kern parallel zu seiner Längsachse. Sie haften an der verbreiterten Spitze (*Sepia*, *Octopus*, *Loligo*) oder an der verbreiterten Basis des Kernes (*Helix*). Bei den Cephalopoden und bei *Cipangopaludina* ist die Kondensation des Chromatins begleitet von der Ausbildung dicker, regellos zerfranster Chromatinbalken, deren spezielle Form auf Artefakten beruhen dürfte. Bei *Helix* (Rebhun 1957) entstehen, offenbar ohne die Mitwirkung der Kernmembran, vorübergehend Chromatinlamellen, die sich, ähnlich wie bei *Gryllus*, gegen Ende der Entwicklung wieder auflösen.

Bei den Vertebraten (*Felis:* Burgos und Fawcett 1955; *Homo:* Fawcett 1958) und bei *Periplaneta* (Ris 1958) bildet das Chromatin Stränge von einigen 100 AE Durchmesser, die regellos durcheinanderliegend das Kernlumen ausfüllen.

Die Chromatinstränge junger Spermatidenkerne haben einen Durchmesser von etwa 200 AE (*Periplaneta:* Ris 1958; *Chorthippus:* Sjöstrand und Afzelius 1956; *Gryllus:* Schlote und Schin 1962), 160 AE (*Cipangopaludina:* Yasuzumi und Tanaka 1958), 100 AE (*Sepia*, *Octopus*, *Romalea:* Ris 1958), 70—90 AE (*Helix:* Grassé et al. 1956), weniger als 50 AE (*Drosophila:* Meyer 1962, mündl. Mitteilung). Sie sind zum Teil hohl, besitzen also Röhrchenstruktur (*Romalea*, *Gryllus*), zum Teil sind sie ganz offensichtlich kompakt (*Chorthippus*, *Cipangopaludina*, *Helix*, Cephalopoden). Soweit man sieht, stehen diese Stränge durchweg nahezu senkrecht auf der Kernmembran (*Helix*, *Octopus*, *Sepia*, *Loligo*, *Gryllus*), selbst wenn sie sich anschließend im Kerninneren regellos aufwinden (Burgos und Fawcett 1955, 1956).

Vergleicht man elektronenmikroskopsische Bilder von Spermatidenkernen verschiedener Organismengruppen miteinander, dann fällt auf, daß die innere Kernmembran fast stets dicker ist als die äußere. Es sieht aus, als sei sie von einer dichten Schicht belegt (*Felis:* Fawcett 1958, *Helix:* Grassé et al. 1956). Vielleicht darf man auch die der Kernmembran partiell anhaftende sog. Granaschicht von *Periplanata* (Ris 1958) mit hinzurechnen. Ihre Bedeutung war bislang unbekannt.

Es kann sich nicht um zufällige Berührungspunkte irgendwelcher Abschnitte der Chromatinstränge mit der Kernmembran handeln; denn dann sollten von keinem tangential unter der Kernmembran entlanglaufenden Chromatinstrang mehr als zwei Äste in den Kern hineinziehen. Aber schon die Bilder von Fawcett (1955, l. c. Abb. 10) deuten an, daß an einem durchgehenden Stück Tangentialstruktur drei oder mehr Radialstränge ansetzen können. Bei *Gryllus* zweigen oft drei, manchmal 5 oder noch mehr Radialstränge von der Tangentialschicht ab, bevor sie unterbrochen wird (Abb. 7b: L).

Die Frage ist, in welcher Beziehung Tangentialschicht und Radialstränge zur Struktur des Chromosoms stehen und wie sich der relativ große Durchmesser dieser Stränge mit der sehr viel geringeren Breite eines DNS-Moleküls vereinbaren läßt.

Grassé et al. (1956) sind der Ansicht, daß die 27 Chromosomen des haploiden Satzes von *Helix* im Spermatidenkern zu Mäandern aufgefaltet sind, die mit ihrer einen Umkehrstelle an der centriol-nahen Seite der Kernmembran haften. Die zunächst unregelmäßig gefalteten Schleifen sollen sich zusammen mit dem Kern während der weiteren Entwicklung strecken und schließlich mit ihren Längsachsen der Kernachse parallel legen. Auf Querschnitten durch fast reife Spermien zählten die Autoren etwa 1800 quergetroffene Fäden zu je etwa 70 AE Durchmesser. Berechnet man an Hand eines Längsschnittes durch einen viel jüngeren Spermatidenkern die Fläche, die jedes dieser Filamente auf der inneren Kernmembran nahe dem Centriol einnimmt und berücksichtigt man die Größe der gesamten Anheftungsfläche (Grassé et a. l. c. Abb. 5), so gelangt man ebenfalls zu einigen tausend Fäden pro Zellkern. Die mittlere Länge eines reifen Spermiums von *Helix* beträgt 7 μ, die gesamte Fadenlänge somit 12600 μ. Das sind umgerechnet auf eine einzige DNS-Doppelhelix 4×10^{-15} gr DNS, also etwa soviel, wie die DNS-Menge eines Bakteriums beträgt (*B. Megatherium* enthält 7×10^{-14} g DNS: vergl. Schlote 1961). Da reife Spermienkerne von *Helix* stark negativ doppelbrechend im Bezug auf ihre Längsachse sind, dürfte die DNS den 70 AE-Fädchen parallel verlaufen. Tiere dieser Differenzierungsstufe pflegen aber pro diploidem Zellkern 10^{-12}—10^{-13} gr DNS zu enthalten. Mithin muß sich entweder ein 70 AE starker Faden aus einer größeren Zahl von einander parallelen DNS-Doppelschrauben zusammensetzen oder es sind während des Präparationsganges nennenswerte DNS-Mengen verlorengegangen. Letzteres ist aber unwahrscheinlich, da gerade die Fixation mit Osmiumtetroxyd die Dauer der zu der Feulgen'schen Nuklealreaktion benötigte Hydrolyse stark ansteigen läßt.

2. Das Chromatin im Spermatidenkern der Grille. Die Verhältnisse bei *Gryllus* lassen sich nicht ohne weiteres mit jenen von *Helix* vergleichen. Denn hier haften nicht einige 1000, sondern mehr als 10000 einzelne, allerdings sehr viel kürzere Chromatinstränge an einer Tangentialschicht, die deutlich von den beiden Kernmembranen unterschieden werden kann. Während die Kernmembran eine echte durchgehende Membran darstellt, setzt sich die Tangentialschicht eines Dünnschnittes aus zahlreichen 1000—2000 AE langen, 200 AE breiten Strangstücken zusammen. Berücksichtigt man, daß die Tangentialschicht in sehr dünnen Schnitten (Abb. 8) zweischichtig zu sein scheint, in dicken Schnitten zwar denselben Außendurchmesser besitzt, jedoch kompakt ist und von einer feinen Querstreifung bedeckt wird (Abb. 9), dann ist möglich, daß sie sich aus aus einem oder mehreren dünnsten Fädchen zusammensetzt, die zu einer engen Schraube aufgewunden sind. Würde sich eine Anzahl von derartigen 200 AE starken Strängen mäanderartig auffalten und in einschichtiger Lage die innere Oberfläche der Kernmembran bedecken, dann müßten dünne Querschnitte die Tangentialschicht als aus zahlreichen kurzen Stücken zusammengesetzt erscheinen lassen.

Streckt sich der Spermatidenkern, so folgen die Elemente der Tangentialschicht dieser Bewegung, denn die periphere Chromatinschicht wird an keiner Stelle unterbrochen und der Winkel, den die kleine Achse der Indexellipse mit der Längsachse des Kernes bildet, nimmt ab (vgl. S. 486). Deshalb ist es unwahrscheinlich, auf Querschnitten durch lanzettförmige Spermatidenkerne Teile dieser Schicht wiederzufinden. Auch bei Längsschnitten durch ältere langgestreckte Spermatidenkerne wird man nur dann Erfolg haben, wenn Schnittebene und Richtung der Tangentialstränge zusammenfallen und die Stränge nicht infolge der Dehnung, welcher sie ausgesetzt waren, zu dünn geworden sind. Wenn es bisher nicht gelang, die Tangentialschicht auch in älteren Spermatidenkernen nachzuweisen, so steht dieser negative Befund nach den soeben gemachten Ausführungen der Hypothese nicht entgegen, daß die Tangentialschicht in allen

Stadien der Spermatidenreifung zugegen ist und die radialen Chromatinstränge wie die Zinken eines Kammes an ihr haften.

Auch die radialen Chromatinstränge stellen offenbar zunächst Schräubchen dar, die aus einem oder wenigen eng aufgewickelten dünnsten Fäden zusammengesetzt sind. Dafür sprechen einige Befunde. Einmal besitzen die Stränge, wie hier und da allerdings relativ schlecht zu erkennen ist, eine feine Querstreifung (Abb. 9b, Gabel). Sodann erkennt man auf Kappenschnitten durch Kerne, in denen sich die Radialstränge soeben zu strecken beginnen, zahlreiche quergetroffene Röhrchen von etwa 200 AE Durchmesser. Außerdem ist die Doppelbrechung junger, soeben erst lanzettförmig werdender Spermatidenkerne noch überaus gering (Abb. 10a). Sie steigt erst an, sobald sich die Radialstränge strecken und danach miteinander verschmelzen (Abb. 11, 12). Dann weisen Chromatinstränge und die kleine Achse der Indexellipse in dieselbe Richtung (Abb. 12). Die parallelen 200 AE starken Schräubchen der Abb. 10 sollten deshalb DNS-Elemente enthalten, deren Längsachsen um wenig mehr als 45 Grad gegen die Schräubchenachse geneigt sind.

Sind die radialen DNS-Ketten maximal gestreckt, so kann an Hand von Dünnschnitt-Elektronenbildern ihre Länge berechnet werden. Man darf annehmen, daß die Streckung eingesetzt hat, sobald die ersten kompakten Radialmizelle von unregelmäßig zerfranstem Querschnitt auftreten, also in einem Stadium,wie es in Abb. 12 wiedergegeben ist. Hier ragen einige relativ dünne Mizelle bis weit in die Mitte des Kernes hinein. Die Masse der Substanz endet jedoch in 0,15 μ Abstand von der Kernmembran. Betrachtet man einen Querschnitt durch ein älteres Stadium, bei dem die Kondensation weiter fortgeschritten ist, so erhält man Werte von 0,2—0,3 μ. Sind die meisten DNS-Mizelle 0,2 μ lang, ragen sie radspeichenartig in das Kernlumen hinein, dann muß Wasserverlust, also Schrumpfung dazu führen, daß ihre Enden an der Peripherie des Kernes weiter voneinander entfernt sind als in einer mehr nach innen gelegenen Zone. An eine lockere Außenschicht wird sich also eine überaus kompakte ringförmige Zone anschließen, deren größte Dichte dort erreicht wird, wo die überwiegende Zahl der Radialmizelle endet. Das ist (Abb. 13b) in ungefähr 0,2 μ Abstand von der Kernmembran der Fall. Berücksichtigt man, daß die DNS-Mizelle dieser Phase mit der Längsachse des Kernes einen spitzen Winkel bilden (vergl. Abb. 4), so dürfte ihre wahre Länge größer sein und 0,3—0,4 μ betragen.

Über die Anzahl radialer DNS-Ketten pro Zellkern geben die weiter oben durchgeführten Rechnungen Auskunft (S. 491), da gleichbreite Radialstränge junger Spermatidenkerne (Durchmesser 200 AE) auch gleiche DNS-Mengen pro Filamentquerschnitt enthalten dürften. Wenn also ein Spermatidenkern 10—20000 Radialfilamente zu je 0,3—0,4 μ Länge besitzt, so würde das einer DNS-Menge von mindestens $1 \times 0{,}3 \times 10000$ oder 3 mm bzw. 9×10^{-15} gr gleichkommen.

Die hier gefundene Anordnung des Chromatins im Spermatidenkern kann, wie weiter oben (S. 482) ausgeführt wurde, nicht erklärt werden, solange man annimmt, daß Chromosomen durch einen über seine gesamte Länge gleichförmigen DNS-haltigen Faden repräsentiert werden. Der Faden muß vielmehr imstande sein, Seitenzweige auszubilden. Hier bietet sich ein Modell an, welches aufgrund intensiver Studien an Lampenbürstenchromosomen der Amphibien gewonnen wurde (Callan 1961). Sein wesentlichstes Element ist ein einziger durchgehender

DNS-Faden. Er soll jedoch in bestimmten Abständen die Fähigkeit besitzen sich dergestalt zu Schleifen aufzufalten, daß sich Anfangspunkt und Ende einer Schleife miteinander zu verbinden vermögen. Die „Achse" eines solchen Chromosoms würde dann dargestellt durch eine Kette von derartigen Haftpunkten und den an sie grenzenden kurzen Zwischengliedern, welche zu den benachbarten Haftpunkten der nächstfolgenden Schleifen überleiten. Die Seitenzweige würden dem hin- und zurücklaufenden DNS-Faden einer Schleife entsprechen. Das Modell von Taylor (1963) kommt dieser Vorstellung sehr nahe, wenn auch die Länge der dort diskutierten Seitenzweige geringer ist.

Es ist verlockend, ein derartiges Chromosomenmodell den hier erhobenen Befunden zugrundezulegen und die Haftpunktkette mit der Tangentialschicht, die Radialstränge mit den Schleifen zu vergleichen.

So kann man die Länge eines Seitenastes und die mittlere Länge eines Cistrons einander gegenüberstellen. Nimmt man z. B. für ein mittelgroßes Protein ein Molekulargewicht von 50000 an, läßt man das Protein aus 400 Aminosäuren eines mittleren Molekulargewichtes von 120 bestehen, dann sind für die erforderliche Informationsübertragung bei Zugrundelegung des Dreiercodes 1200 Nukleotide erforderlich. Das wären $1200 \times 0{,}34$ mμ oder $0{,}4\,\mu$. Diese Zahl entspricht der mittleren Länge eines Radialstranges.

In anderer Hinsicht versagt das Modell. Die größtmögliche DNS-Menge, welche ein Spermatidenkern unter den hier getroffenen Voraussetzungen enthalten kann, beträgt, wäre jeder Radialstrang aus einer einzigen hin und zurücklaufenden DNS-Kette zusammengesetzt, $2 \times 0{,}4 \times 20000 \times 10^{-3}$ oder 16 mm bzw. $4{,}8 \times 10^{-14}$ gr DNS. Gefunden wurden (Durand 1955) 6×10^{-12} gr DNS pro Grillenspermium. Die molekulare Deutung der Elektronenbilder liefert mithin zu wenig DNS. Man stößt hier auf dieselbe Diskrepanz zwischen Forderung und Befund, wie sie weiter oben an Hand der Befunde von Grasse et al. für Helix dargelegt wurde. Dieser Widerspruch entzieht sich vorerst einer Deutung, will man nicht zu irgendeiner Form von Polytäne seine Zuflucht nehmen.

C. Der synaptinematische Komplex

1. Paarungsstrukturen in den bivalenten Autosomen. Sehr bemerkenswert ist das Verhalten der Chromosomen in der meiotischen Prophase. Wie oben angeführt, gibt es Gründe dafür, anzunehmen, daß sich die Tangentialsschicht junger Spermatidenkerne aus den Achsen der 10 bzw. 11 Chromosomen des haploiden Satzes aufbaut. Dann müßten sich vergleichbare Strukturen auch in der meiotischen Prophase finden lassen. Nun ist bekannt, daß die bivalenten Chromosomen des Pachytäns durch den synaptinematischen Komplex zusammengehalten werden. Er besteht aus einem in der Mitte des bivalenten Chromosoms entlanglaufenden dunklen Band, dem „Core", welches von zwei hellen Bändern flankiert wird. In diesen kann (Ris 1956) beiderseits des Cores je ein weiteres, allerdings wesentlich schmaleres dunkles Band gelegen sein. Diese Struktur wird zu beiden Seiten abgeschlossen durch eine sehr kompakte Schicht aus feinfädigem, scheinbar wirr durcheinanderliegendem Material, welches in die peripheren Chromatinmassen übergeht und wohl auch selbst DNS enthält (Moses 1958).

Alle diese Strukturen besitzen ihre größte Ausdehnung in der Längsrichtung des Chromosoms. Es besteht aber kein Zweifel daran, daß in der meiotischen

Prophase eine äußerst strenge Paarung zwischen homologen Loci stattfindet. Die Befunde von Callan zeigen das auch cytologisch mit aller Deutlichkeit. Demnach fehlt eine Transversalstruktur, welche die Paarung bewerkstelligen könnte. Sie wurde in Gestalt von feinsten Filamenten erstmals von Sotelo et al. (1960) an den Pachytänchromosomen einer argentinischen Grille dargestellt. Die hier mitgeteilten Befunde bestätigen die Ergebnisse Sotello's. Sie zeigen darüberhinaus, wie man sich wohl das Zustandekommen eines „Cores" zu denken hat.

Es fällt auf, daß die Transversalfilamente in der Mitte zwischen den einander gegenüberliegenden Chromatinbändern mehr Masse enthalten, also dunkler sind, als zu den Rändern hin (Abb. 15a). Das würde die Entstehung eines zentralen dunklen Bandes, eben des „Cores", verständlich machen. Wird ein solches Core so geschnitten, daß die Chromatiden unter und über den Schnittebenen liegen, dann zeigt sich, daß es sich aus einer größeren Anzahl von Punkten zusammensetzt (Abb. 16b). Wahrscheinlich handelt es sich um quer getroffene, in der Coreregion verdickte Transversalfilamente. Darüberhinaus erkennt man, daß diese Punkte offenbar einer hinter dem anderen angeordnet sind (rechte Hälfte Abb. 16b). Bei geringerer Vergrößerung muß dies zu der Vorstellung führen, ein Core setze sich aus Längselementen zusammen (vergl. Abb. 18b).

Diese Ansicht läßt sich durch die Tatsache befestigen, daß der Abstand zwischen zwei Transversalfilamenten, gemessen von Mitte zu Mitte, etwa 85 AE beträgt. Setzt man an, daß die mittlere Länge eines Pachytän-Autosoms etwa 15 μ beträgt (= 1,5 Kerndurchmesser), dann erhält man von 10 Autosomenpaaren 17600 Transversalfilamente, also der Größenordnug nach ebensoviel Querverbindungen, wie Radialstränge an der Tangentialschicht junger Spermatidenkerne ansetzen.

2. Paarungsstrukturen im Heterochromosom. Besonders merkwürdig ist das Heterochromosom. Obwohl ein homologes Chromosom fehlt, entwickeln sich an ihm Strukturen, die sich nicht vom synaptinematischen Komplex unterscheiden lassen. Nun verhält sich das Heterochromosom von *Gryllus* während der meiotischen Teilung und in jungen Oocyten, als ob es stark heterochromatisch sei. Um den obengenannten Befund zu erklären, mag man deshalb annehmen, daß die für die Anheftung von Transversalfilamenten verantwortlichen Loci abschnittweise gleichartig geworden sind. So könnte es zu einer Paarung verschiedener Abschnitte eines X-Chromosoms miteinander kommen. Das Auftreten von Paarungsstrukturen in jungen Spermatidenkernen würde sich erklären lassen, wenn man annimmt, daß ein für die Ausbildung von Transversalfilamenten verantwortlicher Genkomplex hier erneut aktiv geworden ist. Da nach dem oben gesagten nur noch das Heterochromosom der Spermatidenkerne paarungsfähige Abschnitte besitzen dürfte, kann sich auch nur dies Chromosom noch paaren und zwar mit sich selbst. Beweise für diese Hypothese fehlen noch.

Zusammenfassung

Die Ausdifferenzierung der Spermatidenkerne von *Gryllus domesticus* wird an Hand von elektronen- und polarisationsmikroskopischen Befunden beschrieben. Ferner werden elektronenmikroskopische Bilder von Pachytänkernen gezeigt.

1. Die Pachytänchromosomen enthalten Paarungsstrukturen, deren zentrales Element ein etwa 500 AE starker Strang, das „Core", ist. Er ist in eine helle Lakune

von etwa 1000 AE Durchmesser eingebettet, an deren Peripherie das Chromatin in Form von dünnsten Filamenten haftet. Zwischen einander gegenüberliegenden Chromatiden treten Transversalfilamente auf. Es gibt Hinweise dafür, daß der zentrale Strang des synaptinematischen Komplexes, das „Core", von einer lokalen Zunahme des Durchmessers der Transversalfilamente herrührt.

2. Auch das Heterochromosom enthält Paarungsstrukturen. Es ist im Pachytän stark heterochromatisch. Paarungsstrukturen, deren Zugehörigkeit zum Heterochromosom wahrscheinlich ist, wurden außerdem in jungen Spermatidenkernen gefunden.

3. Nach der Telophase 2 treten die Chromosomen des sich auflockernden Spermatidenkernes mit einzelnen Abschnitten in enge Beziehung zur inneren Kernmembran. Dieser Zustand wird, von Umordnungen abgesehen, beibehalten und vervollständigt, bis schließlich das gesamte Chromatin in einer 0,2—0,3 μ breiten ringförmigen Zone der inneren Kernmembran anliegt.

4. Dicht unter der inneren Kernmembran befindet sich eine Tangentialstruktur. An ihr haften radiale Chromatinstränge von 200 AE Durchmesser. Sie liegen zunächst ungeordnet durcheinander, strecken sich dann aber mit fortschreitender Reifung des Kernes. Die Tangentialstruktur setzt sich aus Strängen von 200 AE Durchmesser zusammen. Diese stellen anscheinend einfach aufgewundene Schräubchen dar, deren Elemente weniger als 30 AE stark sein dürften.

5. Die 200 AE starken Radialstränge junger Spermatidenkerne stellen Schräubchen dar. Später strecken sie sich soweit, daß die vormals aufgewundenen DNS-Fäden nun gradlinig in den Kern einstrahlen. Sodann verkleben die Radialfäden zu dicken Strängen. Die Mehrzahl dieser Stränge ist etwa 0,4 μ lang. Einige Stränge reichen bis in das Zentrum des Kernes hinein. Die Streckung der Radialstränge und der Übergang zu Radialfilamenten ist von einer starken Zunahme der Eigendoppelbrechung begleitet.

6. Die Befunde sprechen für ein verzweigtes Chromosomenmodell. Sie lassen sich deuten, wenn man annimmt, daß sich die Tangentialschicht aus den Achsen der 10 bzw. 11 Chromatiden des haploiden Satzes zusammensetzt, die während der Spermatidenreifung in einschichtiger Lage der inneren Kernmembran angeheftet wurden. Die Radialstränge bzw. Radialfilamente wären dann die Seitenketten.

7. Versuche, die elektronenmikroskopischen Bilder quantitativ zu deuten, führen zu DNS-Mengen pro Spermatidenkern, die um Größenordnungen unter dem Befund liegen. Es wird daher für möglich gehalten, daß die Radialstränge mehr als zwei DNS-Ketten enthalten.

Literatur

André, J.: Contribution à la connaissance du chondriome. Étude de ses modifications ultrastructurales pendant la spermatogénèse. J. Ultrastr. Res., Suppl. **3** (1962).

Bělař, K.: Die cytologischen Grundlagen der Vererbung. In: Handbuch der Vererbungswissenschaft, Bd. I. Berlin: Gebrüder Bornträger 1928.

Bernhard, W., et E. de Harven: L'ultrastructure de centriole et d'autres éléments de l'appareil chromatique. 4. Intern. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Vol. 2, 217—227. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Boveri, Th.: Über Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eies von *Ascaris megalocephala*. Anat. Anz. **22**, 688—693 (1887).

Buchner, P.: Praktikum der Zellenlehre I. Sammlung naturwissenschaftlicher Praktika. Bd. 5. Berlin: Gebrüder Bornträger 1915.

Burgos, M. H., and D. W. Fawcett: Studies on the fine structure of the mammalian testis. Differentiation of the spermatids in the cat *(Felis domestica)*. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 287—300 (1955).

— — An electron microscope study of spermatid differentiation in the toad, *Bufo arenarum* Hensel. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 223—240 (1956).

Carlson, J. G., and A. Hollaender: Intensity effects of ultraviolet radiation of wavelength 2537 Å on mitosis in the grasshopper neuroblast. J. cell. comp. Physiol. **26**, 165—173 (1945).

Caspersson, T.: Nukleinsäureketten und Genvermehrung. Chromosoma (Berl.) **1**, 605—619 (1939).

Chardard, R.: L'ultrastructure des chromosomes prophasiques meiotiques Orchidées. C. R. Acad. Sci. (Paris) **249**, 1386—1388 (1959).

Dass, C. M. S., and H. Ris: Submicroscopic organization of the nucleus during spermatogenesis in the grasshopper. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 129—132 (1958).

Durand, M. C.: L'acide désoxyribonucléique des gamètes de *Gryllus domesticus*. C. R. Acad. Sci. (Paris) **241**, 1340—1343 (1955).

Favard, P.: Évolution des ultrastructures cellulaires au cours de la spermatogénèse de l'ascaris (*Ascaris megalocephala* Schrank = *Parascaris equorum* Goerze). Ann. Sci. nat. **3**, 53—152 (1961).

Fawcett, D. W.: The structure of the mammalian spermatozoon. Int. Rev. Cytol. **7**, 195—234 (1958).

Freese, E.: The arrangement of DNA in the chromosome. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **23**, 13—18 (1958).

Gall, J. G., and L. B. Bjørk: The spermatid nucleus in two species of grasshopper. J. biophy. biochem. Cytol. **4**, 479—484 (1958).

Gibbons, I. R.: Chromosomal structure in primary spermatocytes of the locust. 4. Intern. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Vol. **2**, p. 238. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

—, and J. R. G. Bradfield: The fine structure of nuclei during sperm maturation in the locust. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 133—140 (1957).

Grassé, P. P., N. Carasso et P. Favard: Les ultrastructures cellulaires au cours de la spermiogénèse de l'Escargot *(Helix pomatia)*, évolution des chromosomes, du chondriome, des mitochondries, de l'appareil de Golgi etc. Ann. sci. nat. Zool. et biol. animale **18**, 339—380 (1956).

Hartmann, M.: Allgemeine Biologie, 4. Aufl. Stuttgart: Gustav Fischer 1953.

Kaye, J. S.: Acrosome formation in the house cricket. J. biophys. biochem. Cytol. **12**, 411—431 (1962).

Kran, K.: Die Struktur des Chromosoms von *Escherichia coli*. Arch. Microbiol. **44**, 1—22 (1962).

Meyer, G. F.: Mündliche Mitteilung 1962.

— O. Hess u. W. Beermann: Phasenspezifische Funktionsstrukturen in Spermatocytenkernen von *Drosophila melanogaster* und ihre Abhängigkeit vom Y-Chromosom. Chromosoma (Berl.) **12**, 676—716 (1961).

Moses, M. J.: Chromosomal structures in crayfish spermatocytes. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 215—218 (1956a).

— Studies on nuclei using correlated cytochemical, light, and electron microscope techniques. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl. 398—406 (1956b).

— The relation between the axial complex of meiotic prophase chromosomes and chromosome pairing in a salamander *(Plethon cinereus)*. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 633—638 (1958a).

— Patterns of organization in the fine structure of chromosomes. 4. Intern. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Vol. **2**, p. 199—211. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958b.

Pattri, H. O. E.: Über Doppelbrechung der Spermien. Z. Zellforsch. **16**, 723—744 (1932).

Rebhun, L. I.: Nuclear changes during spermiogenesis in a pulmonate snail. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 509—524 (1957).

Ries, E., u. M. Gersch: Biologie der Zelle. Leipzig: J. B. Teubner 1953.

Ris, H.: Die Feinstruktur des Kerns während der Spermiogenese. Chemie der Genetik. 9. Colloq. der Ges. Physiol. Mosbach/Baden, S. 1—28 1958.

Robertson, J. D.: New observations on the ultrastructure of the membranes of frog peripheral nerve fibers. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 1043—1048 (1957).

Roth, L. E., S. W. Obetz, and E. W. Daniels: Electron microscopic studies of mitosis in amebae. I. Amoeba proteus. J. biophys. biochem. Cytol. **8**, 207—220 (1960).

Schin, K. S., u. Fr. W. Schlote: Ausdifferenzierung der Spermatiden und Formwechsel des Chromatins bei *Gryllus domesticus*. Zool. Anz. **26**. Suppl.-Bd. Verh. Dtsch. Zoolog. Ges., Wien 1962.

Schlote, Fr. W.: Zellforschung mit Elektronenmikroskop und Mikromanipulator. Leitz, Mitt. **1**, 42—46 (1959a).

— Über den Bau des Chromonemas bei Bakterien und höher differenzierten Organismen. Verh. Dtsch. Zool. Ges. 23, 478—494 (1959b).

—, u. G. Föge: Gezielte Ultradünnschnitte durch beliebige Zellen aus jedem Gewebe. 4. Intern. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Bd. 2, S. 79—84. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

—, u. K. S. Schin: Ordnungsprinzipien im Spermatidenkern von Gryllus domesticus L. Hinweise auf polytäne Flaschenbürsten-Chromosomen. Über den Feinbau von Chromosomen II. Z. Naturforsch. **17**b, 559—571 (1962).

Schmidt, W. J.: Der submikroskopische Bau des Chromatins. I. Mitt.: Über die Doppelbrechung des Spermienkopfes. Zool. Jb. Abt. allg. Zool. u. Physiol. **43**, 177—216 (1928).

Schrader, F.: Die Bewegung der Chromosomen bei der Zellteilung. Wien: Franz Deuticke 1954.

Sjöstrand, F. S., and B. A. Afzelius: Electron microscopy on grasshopper spermatids. Proc. Conf. Electr. Microsc. Stockholm 1956, p. 164—167.

Sotelo, J. R., and O. T. Trujillo-Cenoz: Submicroscopic structure of meiotic chromosomes during prophase. Exp. Cell Res. **14**, 1—8 (1958).

— — Electron microscope study on spermatogenesis. Chromosome morphogenesis at the onset of meiosis (cyte I) and nuclear structure of early and late spermatids. Z. Zellforsch. **51**, 243—277 (1960).

Sturtevant, A. H., and G. W. Beadle: An Introduction to Genetics. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1939.

Swanson, C. P.: Cytologie und Cytogenetik. Stuttgart: Gustav Fischer 1960.

Taylor, J. H.: The time and mode of duplication of chromosomes. Amer. Naturalist **41**, 209—221 (1957).

— The replication and organization of DNA in Chromosomes. Molecular Genetics, I, 65—111, ed. by J. H. Taylor. New York: Academic Press 1963.

Yasuzumi, G.: Electron microscopy of the developing sperm head in the sparrow testis. Exp. Cell Res. **11**, 240—243 (1956).

—, and H. Ishida: Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. II. Submicroscopic structure of developing spermatid nuclei of grasshopper. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 663—668 (1957).

—, and H. Tanaka: Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. VI. Researches on the spermatozoon-dimorphism in a pond snail, Cipangopaludina malleata. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 621—632 (1958).

Dr. Ki Ssu Schin
1. Zoologisches Institut
34 Göttingen, Berliner Straße 28

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg